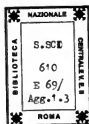
# ENCICLOPEDIA MEDICA ITALIANA

USES
Edizioni Scientifiche
Firenze

Digitized by Google

# ENCICLOPEDIA MEDICA ITALIANA

Aggiornamento della
Seconda edizione

*Editor*: LUCIANO VELLA

USES
Edizioni Scientifiche
Firenze

Digitized by Google

## *Comitato Scientifico Consultivo*


MASSIMO ALOISI
*Professore emerito di Patologia generale, Università di Padova*

ETTORE AMBROSIONI
*Professore ordinario di Medicina Interna, Università di Bologna*

ANTONIO ASCENZI
*Professore ordinario f. r. del I Istituto di Anatomia e Istologia patologica, Università « La Sapienza », Roma*

GIUSEPPE C. BALBONI
*Direttore dell'Istituto di Anatomia umana normale, Università di Firenze*

CARISSIMO BIAGINI
*Direttore dell'Istituto di Radiologia medica, Università « La Sapienza », Roma*

PAOLO BIOCCA
*Professore f. r. di Clinica chirurgica e Terapia chirurgica, Università « La Sapienza », Roma*

BRUNO BOLES-CARENINI
*Direttore della Clinica oculistica, Università di Torino*

ROBERTO G. BURGIO
*Direttore della Clinica pediatrica, Università di Pavia*

LUIGI CAPOZZI
*Direttore della Clinica odontostomatologica, Corso di laurea in Odontoiatria e Protesi dentaria, Università « La Sapienza », Roma*

ADRIANO CASTELLI
*Direttore dell'Istituto di Chimica biologica, Università Cattolica « Sacro Cuore », Roma*

LUCIANO CECILIANI
*Direttore della Clinica Ortopedica, Università di Pavia*

SERGIO CERQUIGLINI
*Direttore dell'Istituto di Fisiologia umana, Università « La Sapienza », Roma*

CORNELIO FAZIO
*Professore emerito della facoltà di Medicina e Chirurgia, Università « La Sapienza », Roma*

CESARE GERIN
*Professore emerito di Medicina legale, Università « La Sapienza », Roma*

FRANCESCO INGRAO
*Libero docente in Malattie Respiratorie, Università « La Sapienza », Roma*

PIER LUIGI IPATA
*Professore ordinario di Chimica biologica, Università di Pisa*

PAOLO LARIZZA
*Professore emerito di Clinica medica, Università di Perugia*

BRUNO MAGNANI
*Direttore dell'Istituto di Malattie dell'Apparato cardiovascolare, Università di Bologna*

CARLO MAURI
*Professore emerito di Clinica medica generale e Terapia medica I, Università di Pavia*

GIUSEPPE MONTALENTI
*Professore emerito di Genetica, Università « La Sapienza », Roma*

GIAN GASTONE NERI SERNERI
*Direttore della Clinica medica generale e Terapia medica I, Università di Firenze*

ADRIANO OSSICINI
*Ordinario di Psicologia dell'Età evolutiva, Università « La Sapienza », Roma*

EMILIANO PANCONESI
*Direttore della Clinica dermatologica, Università di Firenze*

VITO PATRONO
*Libero docente di Patologia medica, Università « La Sapienza », Roma*

MICHELE PAVONE
*Direttore della Clinica urologica, Università di Palermo*

GIANCARLO REDA
*Direttore dell'Istituto di Clinica psichiatrica, Università « La Sapienza », Roma*

VINCENZO RICCI
*Professore di Clinica otorinolaringoiatrica, Università di Verona*

GEO RITA
*Già Direttore dell'Istituto di Virologia, Università « La Sapienza », Roma*

SERGIO ROMANI
*Professore ordinario di Radiologia, Università di Padova*

CARLO ALFONSO ROSSI
*Direttore dell'Istituto di Chimica biologica, Università di Bologna*

UMBERTO SERAFINI
*Professore ordinario f. r. di Clinica medica generale e Terapia medica, Università « La Sapienza », Roma*




Digitized by Google

# *Collaboratori del III volume dell'Aggiornamento I*

Antonella AFELTRA
Ricercatore Confermato, III Clinica Medica, Univ. di Roma «La Sapienza» – ISTIOCITOSI X.
Fernando AIUTI
Direttore Cattedra di Allergologia e Immunologia Clinica, Univ. di Roma «La Sapienza» – LINFOCITI.
Elvio ALESSI
Professore Ordinario di Clinica Dermosifilopatica, Univ. di Milano – KAPOSI, MORBO DI.
Massimo ALOISI
Professore Emerito di Patologia Generale, Univ. di Padova – MUSCOLO.
Sergio AMADORI
Professore Ordinario di Ematologia, Univ. di Roma «La Sapienza» – LEUCEMIE.
Maria Antonietta AMENDOLEA
Tecnico Laureato, Ist. Malattie Infettive, Univ. di Roma «La Sapienza» – ORGANOSPECIFICI E NON ORGANOSPECIFICI AUTOANTICORPI.
Gino AMICONI
Professore Ordinario di Chimica Medica, Univ. di Roma «La Sapienza» – METEMOGLOBINEMIA.
Antonio AMOROSO
Ricercatore Confermato, III Clinica Medica, Univ. di Roma «La Sapienza» – ISTIOCITOSI X.
Massimo ANDREONI
Ricercatore, Cattedra di Malattie Infettive, II Univ. di Roma «Tor Vergata» – ISOLAMENTO.
Mariano ANTONELLI
Professore Associato di Pediatria, Univ. di Roma «La Sapienza» – MUCOVISCIDOSI.
Ferdinando ANTONIOTTI
Professore Ordinario e Titolare I Cattedra di Medicina Legale e delle Assicurazioni; Direttore Scuola di Specializzazione in Medicina Legale e delle Assicurazioni, Univ. di Roma «La Sapienza» – MATRIMONIO.
Flavio ARIENTI
Ricercatore Associato, Divisione di Oncologia Sperimentale «D», Ist. Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori, Milano – ONCOFETALI ANTIGENI.
Paolo ASCENZI
Professore Ordinario di Biochimica Applicata, Univ. di Torino – METEMOGLOBINA; METEMOGLOBINEMIA; MIOGLOBINE.
Filippo ASÒLE
Professore Associato di Chirurgia Generale, Univ. Cattolica del «Sacro Cuore», Roma – LEUCEMIE; LINFOMI.
Franco AVERSA
Aiuto, Clinica Medica I, Univ. di Perugia – LATTOFERRINA.
Sergio BABUDIERI
Ricercatore, Ist. di Malattie Infettive e Parassitarie, Univ. di Sassari – LYME, MALATTIA DI.
Andrea BACICALUPO
Primario, Divisione di Ematologia II, Centro Trapianti Midollo Osseo, Ospedale «S. Martino», Genova – MIDOLLO OSSEO.
Francesco BANDELLO
Ricercatore, Clinica Oculistica, Ospedale «S. Raffaele», Univ. di Milano – LASER.
Gaetano BANDIERAMONTE
Dottore, Ist. Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori, Milano – LASER.
Roberto BARALE
Professore Ordinario di Citogenetica, Univ. di Ferrara – MUTAGENESI.
Giuseppe BARBANTI-BRODANO
Professore Ordinario di Microbiologia, Univ. di Ferrara – LENTIVIRUS.
Enrico BARBIERI
Aiuto Universitario, Ist. di Cardiologia e Chirurgia Cardiovascolare, Cattedra Divisione Clinicizzata Cardiologica, Univ. di Verona – LASER.
Giuseppe BARBOLINI
Professore Ordinario di Anatomia e Istologia Patologica, Univ. di Modena – LINFADENITI INFETTIVE DISTRETTUALI SUPERFICIALI.
Carlo D. BARONI
Professore Ordinario di Anatomia Patologica, Dipartimento di Biopatologia Umana, Univ. di Roma «La Sapienza» – LINFANGITE E LINFADENITE.
Claudio BASSI
Aiuto Ricercatore, Clinica Chirurgica, Univ. di Verona – LAVAGGIO PERITONEALE.
Peter O. BEHAN
Professor of Neurology, Department of Neurology, University of Glasgow, Scozia – MIASTENIA.

Filiberto BELLI
Assistente, Divisione di Oncologia Chirurgica «B», Ist. Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori, Milano – MELANOMA.
Pier Alberto BENEDETTI
Ricercatore, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Ist. di Biofisica del CNR, Pisa – MICROSPETTROSCOPIA.
Silvia BERTUGLIA
Professore Associato di Fisiologia Applicata, Univ. di Pisa – MICROCIRCOLAZIONE.
Corrado BIANCHINI
Professore Associato in Parassitologia Clinica, Ist. di Clinica delle Malattie Tropicali e Infettive, Univ. di Roma «La Sapienza» – MALARIA.
Gabriele BIANCHI PORRO
Direttore Divisione di Gastroenterologia ed Endoscopia Digestiva, Ospedale «L. Sacco», Milano – MESALAZINA; NIZATIDINA; OMEPRAZOLO.
Amico BIGNAMI
Professor of Neuropathology, Department of Pathology, Brigham and Women's Hospital, Massachusetts, U.S.A. – JAKOB-CREUTZFELDT, MALATTIA DI.
Giorgio BIGNAMI
Direttore Laboratorio di Fisiopatologia, Ist. Superiore di Sanità, Roma – NICOTINA.
Camillo BOGLINO
Primario, Divisione di Chirurgia Pediatrica, Ospedale Pediatrico «Bambino Gesù», Roma – MEDIASTINOSCOPIA; MEGACOLON; NEFROBLASTOMA; NEUROBLASTOMA.
Gianni BONADONNA
Direttore Divisione di Oncologia Medica, Ist. Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori, Milano; Professore a Contratto di Ematologia, Univ. di Milano – MAMMELLA.
Gastone BONITO
Libero Docente di Clinica e Microscopia Clinica, Univ. di Roma «La Sapienza» – ORNITINA DECARBOSSILASI.
Gianfranco BORTOLETTI
Professore Associato di Parassitologia, Univ. di Cagliari – LARVA MIGRANS; MICROSPORIDIOSI; NANOFIETIASI; ONCOCERCOSI.
Giovanni BOTTIROLI
Direttore Centro Studio per l'Istochimica, Centro Nazionale delle Ricerche, Pavia – LASER.
Luigi BOZZAO
Titolare Cattedra di Neuroradiologia, Univ. di Roma «La Sapienza» – MENINGI.
Roberto BRACAGLIA
Specialista in Chirurgia Plastica; Ricercatore Universitario Confermato di Chirurgia Plastica, Univ. Cattolica del «Sacro Cuore», Roma – LIPOSUZIONE.
Daniele BRACCHETTI
Primario Cardiologo, Ospedale Maggiore, USL 27, Bologna – LABETALOLO; MIOCARDIO INTONTITO E IBERNATO; NIFEDIPINA E ALTRI CALCIOBLOCCANTI.
Annabella BRAGUGLIA
Pediatra Neonatologo, Ist. di Clinica Pediatrica, Univ. di Roma «La Sapienza» – NEONATO.
Rosario BRANCATO
Direttore Clinica Oculistica, Ospedale «S. Raffaele», Univ. di Milano – LASER.
Santo BRESSANI BOLDI
Titolare Cattedra di Patologia Speciale Chirurgica e Propedeutica Clinica, Univ. di Milano – NUTRIZIONE ENTERALE.
Marinella BROGLIA
Ricercatore, ENEA, Centro Ricerche Energia, Casaccia, Roma – LASER.
Vito L. BURGIO
Ricercatore, Dipartimento di Biopatologia Umana, Univ. di Roma «La Sapienza» – LINFANGITE E LINFADENITE.
Vito CAGLI
Direttore Centro per lo Studio e la Cura dell'Ipertensione Arteriosa e delle Nefropatie, Policlinico Umberto I, Roma – NEFROPATIE MEDICHE.
Stefano CAGLIANO
Laureato in Medicina e Chirurgia; Specialista in Neurologia, Roma – KEARNS-SAYRE, SINDROME DI; KNIEST, DISPLASIA DI; LEBER, MALATTIA DI; LESCH-NYHAN, SINDROME DI; LI-FRAUMENI, SINDROME DI; LIPOSOMI; MUNCHAUSEN, SINDROME DI; NUTRIZIONE.
Luigi CALANDRIELLO
Dottore, Dipartimento Scienze Neurologiche, Univ. di Roma «La Sapienza» – LEUCODISTROFIE; LISOSOMALI MALATTIE; NEUROFIBROMATOSI.
J. Stewart CAMERON
Professor of Renal Medicine, Guy's Hospital, University of London, Inghilterra – NEFROPATIE MEDICHE.
Mario CAMMISA
Libero Docente in Radiologia; Primario Radiologo, Ist. di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico «Casa Sollievo della Sofferenza», San Giovanni Rotondo – osso.
Francesco CANDIANI
Ricercatore, Ist. di Radiologia, Univ. di Padova – MILZA.
Angelo CANIGGIA
Professore f. r. di Clinica Medica, Univ. di Siena – MINERALOMETRIA OSSEA.
Oreste CAPELLI
Assistente, Divisione di Tisiologia, USL 16, Policlinico, Modena – LAVAGGIO BRONCOALVEOLARE.
Vincenzo CARNEVALE
II Clinica Medica, Policlinico Umberto I, Roma – KALLMAN-DE MORSIER, SINDROME DI.
Amilcare CARPI DE RESMINI
Già Direttore Laboratorio di Fisiopatologia, Ist. Superiore di Sanità, Roma – LISINOPRIL; MERCURIO; MIDODRINA; MORICIZINA; NICOTINA.
Natale CASCINELLI
Direttore Divisione di Oncologia Chirurgica «B», Ist. Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori, Milano; Presidente W.H.O. Melanoma Programme – MELANOMA.
Gianni CASELLA
Borsista, Servizio di Cardiologia, Ospedale Maggiore, Bologna – LABETALOLO; MIOCARDIO INTONTITO E IBERNATO.
Claudio CASTELLANO
Ricercatore, CNR, Ist. di Psicologia e Psicofarmacologia, Roma – MEMORIA.
Augusto CAVALLI
Ospedale Magenta, Divisione di Cardiologia, Milano – LORCAINIDE.
Fabrizio C. CELENTANO
Professore Ordinario di Fisica, Univ. di Milano – MEMBRANE BIOLOGICHE.
Antonio CENTI COLELLA
Professore Ordinario di Medicina Nucleare, Univ. di Roma «La Sapienza» – ISOTOPI.
Guglielmo CERULLO
Specialista in Ortopedia, Univ. di Roma «La Sapienza» – MENISCHI E LEGAMENTI.
Enrico CHELI
Professore Ordinario di Clinica Pediatrica; Direttore Scuola di Specializzazione in Pediatria, Univ. di Modena – LINFADENITI INFETTIVE DISTRETTUALI SUPERFICIALI.
Luigi CHIECO BIANCHI
Professore Ordinario di Oncologia, Univ. di Padova – LEUCEMIE.



Digitized by Google

Fausto CHIESA
Vice Direttore Divisione di Oncologia Chirurgica Cervico-Facciale, Ist. Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori, Milano – LASER.
Luciano CIAMPALINI
Primario, Divisione di Endocrinologia e Patologia Costituzionale, Ospedale «S. Eugenio», Roma – MAGREZZE.
Paolo CIAMPALINI
Specialista in Endocrinologia, Cattedra di Endocrinologia I, Univ. di Roma «La Sapienza» – MAGREZZE.
Stefano CIATTO
Dottore, Centro per lo Studio e la Prevenzione Oncologica, Firenze – MAMMELLA.
Maurizio CIGNITTI
Dirigente di Ricerca, Laboratorio di Chimica, Ist. Superiore di Sanità, Roma – OZONO.
Marina CINCO
Professore Associato in Microbiologia, Univ. di Trieste – LYME, MALATTIA DI.
Massimo CIPOLLA
Specialista in Ortopedia, Univ. di Roma «La Sapienza» – MENISCHI E LEGAMENTI.
Guido CIPRANDI
Borsista, Progetto Ricerca Corrente, Chirurgia Toracica/Oncologica, Divisione Chirurgia Pediatrica, Ospedale Pediatrico «Bambino Gesù», Roma – MEDIASTINOSCOPIA; MEGACOLON; NEFROBLASTOMA; NEUROBLASTOMA.
Elena CIRANNI SIGNORETTI
Dirigente di Ricerca, Laboratorio di Chimica del Farmaco, Ist. Superiore di Sanità, Roma – OSSIGENO.
Carlo CLEMENTI
Dottorando di Ricerca «Infettivologia», Ist. di Clinica delle Malattie Tropicali e Infettive, Univ. di Roma «La Sapienza» – LEGIONELLOSI.
Paolo COCCIA
Ricercatore, Ist. «Mario Negri», Milano – MICROSOMALE EPATICO SISTEMA.
Antonio COLANTUONI
Professore Associato di Fisiologia Applicata, Univ. di Pisa – MICROCIRCOLAZIONE.
Massimo COLETTA
Professore Straordinario di Biologia Molecolare, Univ. di Camerino – METEMOGLOBINA; METEMOGLOBINEMIA; MICROSPETTROSCOPIA; MIOGLOBINE.
Adele COMELLI
Aiuto, Divisione di Ematologia e Oncologia Pediatrica, Ist. «G. Gaslini», Genova – LEUCEMIE.
Deborah L. COMMINS
Department of Pharmacological and Physiological Sciences, University of Chicago, U.S.A. – NEUROTOSSINE.
Laura CONTI
Assistente, Laboratorio di Chemioterapia Sperimentale Preclinica, Ist. «Regina Elena», Roma – MIELOPROLIFERATIVE SINDROMI.
Enrico CORAZZIARI
Ricercatore Confermato, Cattedra di Gastroenterologia I, Univ. di Roma «La Sapienza» – MOTILINA; OCTREOTIDE.
Ezio Maria CORRADO
Professore Ordinario di Chirurgia della Mano e Microchirurgia Ortopedica, II Facoltà di Medicina e Chirurgia, Univ. di Napoli «Federico II» – NERVO.
Giulio COSSU
Professore Associato di Istologia ed Embriologia, Univ. di Roma «La Sapienza» – MATRICE EXTRACELLULARE; MICROTUBULI.
Alberto COSTA
Aiuto, Direzione Generale, Ist. Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori, Milano – MAMMELLA.
Alberto COSTANTINI
Direttore Ist. di Clinica Urologica, Univ. di Firenze – LASER.
Marisa COVI
Assistente, Divisione di Tisiologia, USL 16, Policlinico, Modena – LAVAGGIO BRONCOALVEOLARE.
Massimo CREPET
Professore Emerito, Medicina del Lavoro, Univ. di Padova – LAVORO, IGIENE E MEDICINA DEL.
Rinaldo CUBEDDU
Professore Ordinario di Fisica, Politecnico, Milano – LASER.
Roberto CUZZOCREA
Medico Interno, Ist. di Patologia e Clinica Otorinolaringoiatrica e di Foniatria, Univ. di Napoli – LASER.
Massimo CUZZOLARO
Psichiatra, Ricercatore, Univ. di Roma «La Sapienza» – OSSESSIVO-COMPULSIVA NEVROSI.
Ferdinando DANUSSO
Professore Ordinario di Chimica Macromolecolare per l'Ingegneria, Politecnico, Milano – MATERIALI IMPIANTABILI.
Pietro D'ARCANGELO
Titolare di Fisiologia Umana e dell'Apparato Stomatognatico, Univ. di Roma «La Sapienza» – MASTICAZIONE; ORALE AMBIENTE.
Bruno DE BERNARDI
Cattedra di Ematologia, Univ. di Roma «La Sapienza» – LEUCEMIE.
Vittorio DEGIORGIO
Professore Ordinario di Elettronica Quantistica, Univ. di Pavia – LASER.
Cecilia DEL RE
Specialista in Tossicologia, Servizio Autonomo di Tossicologia, Univ. di Firenze – NALOSSONE E NALTRESSONE.
Antonio DE MERULIS
Assistente di Pediatria, Policlinico Umberto I, Roma – NEONATO.
Carlo B. DE PALO
Professore a Contratto, Univ. di Padova – OBESITÀ.
Massimiliano D'ERME
Specializzando in Radiologia, Ist. di Radiologia, Univ. di Roma «La Sapienza» – MEDIASTINO.
Franco DE ROSA
Professore Ordinario di Malattie Infettive, Univ. di Roma «La Sapienza» – LEUCOTRIENI.
Claudio DI BIASI
Ospedale «S. Carlo di Nancy», Roma – MUSCOLO.
Lucio DI GUGLIELMO
Direttore Ist. di Radiologia, Univ. di Pavia, Policlinico «S. Matteo», Pavia – LARINGE.
Carla DI LORETO
Ricercatore, Ist. di Anatomia Patologica, Univ. di Ancona – LINFADENOPATIA ANGIOIMMUNOBLASTICA.
Cosimo DI MAGGIO
Professore Ordinario di Radiologia, Univ. di Padova – MILZA.
Giorgio DI PIERO
Già Primario Pediatra, Ospedale Generale Provinciale, Sora; Libero Docente in Clinica Pediatrica e in Puericultura, Univ. di Roma «La Sapienza» – KAWASAKI, MALATTIA DI; NEONATO.
Roberto DORE
Aiuto Ospedaliero, Ist. di Radiologia, Policlinico «S. Matteo», Pavia – LARINGE.
Monica EMANUELLI
Ricercatore Confermato, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Univ. di Ancona – ISOENZIMI.
Ciro ESPOSITO
Dottorando di Ricerca in Chirurgia Pediatrica, Univ. di Messina – LAPAROSCOPIA.



Digitized by Google

Giovanni ESPOSITO
Professore Ordinario di Chirurgia Pediatrica, Univ. di Napoli – LAPAROSCOPIA; NESIDIOBLASTOSI.
Stefania FARINELLI
Ist. di Malattie Infettive, Univ. di Roma «La Sapienza» – LEUCOTRIENI.
Renato FASOLI
Assistente, Divisione di Medicina, Ospedale «Buzzi», Milano – MESALAZINA.
Marcello FAZIO
Primario Dermatologo, Ist. Dermatologico «S. Maria e S. Gallicano», Roma – MINOXIDILE.
Giovanni FEDERSPIL
Professore Straordinario di Metodologia Clinica, Univ. di Padova – MEDICINA ALTERNATIVA; OBESITÀ.
Renato FELLIN
Direttore Ist. di Patologia Speciale Medica, Univ. di Ferrara – LIPOPROTEINE.
Sergio FERRARI
Ricercatore, Univ. di Modena – LEUCEMIE.
Sergio FERRI
Professore Ordinario di Farmacologia e Farmacognosia, Univ. di Bologna – OPPIOIDI PEPTIDI.
Ladislao FIGÀ TALAMANCA
Specialista in Neurologia e Psichiatria, Ospedale «S. Filippo Neri», Roma – NEUROLETTICA MALIGNA SINDROME.
Giuseppe FILONI
Medico Chirurgo, CTO, Roma – MAGNETOTERAPIA.
Alberto FRACASSO
Ist. di Chirurgia Cardiovascolare, Univ. di Padova – LASER.
Vittorio FRANCO
Specialista in Ortopedia, Univ. di Roma «La Sapienza» – MENISCHI E LEGAMENTI.
Carlo FREDIANI
Ricercatore, CNR, Ist. di Biofisica, Pisa – LASER.
Laura FRONTALI
Professore Ordinario, Facoltà di Scienze M.F.N., Univ. di Roma «La Sapienza» – MITOCONDRI.
Maria FULVI
Dottore, Servizio di Cardiologia, Ospedale Maggiore, Bologna – NIFEDIPINA E ALTRI CALCIOBLOCCANTI.
Paolo GAETANI
Assistente, Clinica Neurochirurgica, Policlinico «S. Matteo», Univ. di Pavia – NERVOSO SISTEMA.
Vincenzo GALLUCCI †
Già Direttore Cattedra di Chirurgia Vascolare, Univ. di Padova – LASER.
Roberto GASPARINI
Professore Ordinario di Igiene e Odontoiatria Preventiva e Sociale con Epidemiologia, Univ. di Siena – ORALE IGIENE.
Giovanna GATTI COLANGELO
Professore Ordinario di Ortognatodonzia e Gnatologia, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Univ. di Roma «La Sapienza» – ODONTOIATRIA.
Luciano GATTINONI
Titolare Cattedra di Terapia Intensiva, Ist. di Anestesia e Rianimazione, Univ. di Milano – OSSIGENAZIONE EXTRACORPOREA.
Gian Luigi GESSA
Direttore Dipartimento di Neuroscienze, Univ. di Cagliari – NEUROLETTICI FARMACI.
Francesco GHIRETTI
Professore di Fisiologia Generale, Univ. di Padova – MUSCOLO.
Michele E. GRANDOLFO
Dirigente di Ricerca, Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica, Ist. Superiore di Sanità, Roma – MORBILLO.
Martino GRANDOLFO
Direttore Laboratorio di Fisica, Ist. Superiore di Sanità, Roma – MICROONDE.
Maria Caterina GRASSI
Ricercatore Confermato, Ist. di Farmacologia Medica, Univ. di Roma «La Sapienza» – LOPERAMIDE E DIFENOSSILATO.
Vittorio GRASSI
Professore Ordinario di Medicina Interna, Univ. di Brescia – MALEDIZIONE DI ONDINE; OSSIGENOTERAPIA.
Elvira GRAVINO
Ricercatore Confermato, Cattedra di Anestesia e Rianimazione, Univ. di Napoli – MENDELSON, SINDROME DI.
Gianfranco GUALDI
Ospedale «S. Carlo di Nancy», Roma – MUSCOLO.
Gabriella GUARNOTTA
Dottoressa, Palermo – MONOCLONALI ANTICORPI.
Alessandro INSERRA
Assistente, Divisione di Chirurgia Pediatrica, Ospedale Pediatrico «Bambino Gesù», Roma – MEDIASTINOSCOPIA; MEGACOLON; NEFROBLASTOMA; NEUROBLASTOMA.
Roberto INVERNIZZI
Ricercatore, Laboratorio di Neurofarmacologia, Ist. «Mario Negri», Milano – MICRODIALISI.
Clotilde Maria JANNUZZI
Direttore II Clinica di Malattie Infettive, Univ. di Genova – MENINGITI.
Giulio JORI
Professore di Biofisica, Univ. di Padova – LASER.
Francesco LACQUANITI
Ricercatore, CNR; Professore a Contratto, Univ. di Milano – NERVOSO SISTEMA.
Christian E. LATERRE
Ordinaire de Neurochimie, Université Catholique de Louvain, Bruxelles – LIQUOR.
Rosangela LATTANZIO
Borsista Universitaria, Clinica Oculistica, Ospedale «S. Raffaele», Univ. di Milano – LASER.
Francesco LAURENTI
Docente di Patologia Neonatale, Ist. di Clinica Pediatrica, Univ. di Roma «La Sapienza» – NEONATO.
Marco LAZZARONI
Dottore, Divisione di Gastroenterologia ed Endoscopia Digestiva, Ospedale «L. Sacco», Milano – NIZATIDINA; OMEPRAZOLO.
Andrea LEVI
Ist. di Neurobiologia, CNR, Roma – NERVOSO TESSUTO.
Gabriel LEVI
Professore Ordinario di Neuropsichiatria Infantile, Univ. di Roma «La Sapienza» – LINGUAGGIO.
Alessandro LIBERATI
Capo Laboratorio di Epidemiologia Clinica, Ist. «Mario Negri», Milano – META-ANALISI.
Vincenzo LO CASCIO
Professore Ordinario di Medicina Interna; Direttore Clinica di Semeiotica e Terapia Medica, Univ. di Verona – OSTEOCALCINA.
Daniela LOMBARDI
Borsista M.U.R.S., Scuola di Specializzazione in Neurochirurgia, Univ. di Pavia – NERVOSO SISTEMA.
Francesca LORUSSO
Aiuto Neurologo, Ospedale «S. Filippo Neri», Roma – LINDAU, MALATTIA DI; MIASTENICHE SINDROMI.
Michele LUCCHESI †
Già Direttore Ist. di Tisiologia e Malattie dell'Apparato Respiratorio, Univ. di Roma «La Sapienza» – MICOBATTERIOSI.



Digitized by Google

Giuseppe LUZI
Ricercatore Universitario Riconfermato, Cattedra di Allergologia e Immunologia, Univ. di Roma «La Sapienza» – KIKUCHI, MALATTIA DI; LINFOCITI.
Luigi MACCHIARELLI
Professore Ordinario di Medicina Legale e delle Assicurazioni; Direttore Ist. di Medicina Legale, Univ. di Roma «La Sapienza» – LESIONI PERSONALI.
Alvise MAFFEI FACCIOLI
Professore Ordinario di Patologia Chirurgica, Univ. di Padova – LAPAROCELE.
Claudia MAGGIORE
Ricercatore Confermato, Univ. di Roma «La Sapienza» – MATERIALI DENTARI.
Bruno MAGNANI
Direttore Ist. di Malattie Cardiovascolari, Univ. di Bologna – MIOCARDIOPATIE.
Giulio MAGNI
Professore Ordinario di Chimica, Univ. di Ancona – ISOENZIMI.
Renato MARCHESINI
Ist. Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori, Milano – LASER.
Gianmario MARIUZZI
Professore Ordinario di Anatomia Patologica, Univ. di Ancona – LINFADENOPATIA ANGIOIMMUNOBLASTICA.
Alberto M. MARMONT
Consulente Scientifico, Divisione di Ematologia II, Ospedale «S. Martino», Genova – MIDOLLO OSSEO.
Luigi Tonino MARSELLA
Ricercatore, II Univ. di Roma «Tor Vergata» – LESIONI PERSONALI.
Giuseppe MARUOTTI
Specialista in Ostetricia e Ginecologia; Assistente Divisione di Chirurgia Generale, Ospedale Civico, Lucera (Foggia) – MALATTIA INFIAMMATORIA PELVICA.
Teodoro MARUOTTI
II Clinica Ostetrica Ginecologica, Univ. di Roma «La Sapienza» – MALATTIA INFIAMMATORIA PELVICA.
Cesare MASALA
Professore Associato; Titolare dell'Insegnamento di Fisiopatologia Medica, Univ. di Roma «La Sapienza» – LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO; ORGANOSPECIFICI E NON ORGANOSPECIFICI AUTOANTICORPI.
Emanuela MASINI
Professore Associato di Tossicologia, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Univ. di Firenze – NALOSSONE E NALTRESSONE.
Luisa MASSIMO
Primario, Divisione di Ematologia ed Oncologia Pediatrica, Ist. «G. Gaslini», Genova – LEUCEMIE.
Marino MASSOTTI
Dirigente di Ricerca, Laboratorio di Farmacologia, Ist. Superiore di Sanità, Roma – NEUROTOSSINE.
Carlo MAURI
Professore di Clinica Medica, Univ. di Pavia – LEUCEMIE.
Vincenzo MEMEO
Ist. di Clinica Chirurgica Generale e Terapia Chirurgica, Univ. di Bari – LASER.
Modesto MENDICINI
Professore Associato di Neonatologia, Ist. di Clinica Pediatrica, Univ. di Roma «La Sapienza» – NEONATO.
Francesco MENICHETTI
Aiuto Corresponsabile, Ist. di Malattie Infettive, Univ. di Perugia – ISTOPLASMOSI; ITRACONAZOLO; KETOCONAZOLO; LEBBRA; METRONIDAZOLO.
Alessandro MENOTTI
Professore, Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica, Ist. Superiore di Sanità, Roma – MORTE IMPROVVISA.
Salvatore MINISOLA
Aiuto, Servizio Aggregato Malattie del Ricambio Minerale, Univ. di Roma «La Sapienza» – OSTEOPOROSI.
Antonio MORELLI
Direttore Ist. di Gastroenterologia ed Endoscopia Digestiva, Univ. di Perugia – MALASSORBIMENTO, SINDROME DA.
Ezio MORELLI
Primario di Chirurgia Plastica e Chirurgia della Mano, Ospedale Civile, Legnano – NEVO.
Aldo MORRONE
Specialista in Dermatologia e Venereologia; Aiuto Dermatologo, Ist. Dermatologico «S. Maria e S. Gallicano», Roma – MINOXIDILE.
Gaetano MOTTA
Professore Straordinario di Clinica Otorinolaringoiatrica e di Foniatria, Univ. di Napoli – LASER.
Giovanni MOTTA
Direttore Ist. di Patologia e Clinica Otorinolaringoiatrica e di Foniatria, Univ. di Napoli – LASER.
Umberto MURA
Professore Ordinario di Chimica Biologica, Univ. di Pisa – NICOTINAMMIDE ADENINDINUCLEOTIDE.
Alfredo MUSAJO-SOMMA
Ricercatore Confermato, Cattedra di Chirurgia Plastica, Univ. di Bari – LASER.
Agostino NAPPO
Aiuto Neurologo, Ospedale Grande degli Infermi, Viterbo – NEVRITI.
Paolo NENCINI
Professore Associato, Ist. di Farmacologia, Univ. di Roma «La Sapienza» – KHAT; MK-801.
Almerico NOVARINI
Professore Ordinario di Patologia Speciale Medica e Metodologia Clinica, Univ. di Parma – MAGNESIO.
Mario NUTI
Professore Associato di Malattie Tropicali, Univ. di Roma «La Sapienza» – LEGIONELLOSI; MARBURG VIRUS ED EBOLA VIRUS, MALATTIE DA.
Alberto OLIVERIO
Professore di Psicobiologia, Univ. di Roma «La Sapienza» – NEUROSCIENZE.
Guido PALLADINI
Professore Ordinario, Dipartimento di Scienze Neurologiche, Univ. di Roma «La Sapienza» – LEUCODISTROFIE; LISOSOMALI MALATTIE; NEUROFIBROMATOSI.
Sergio PALMERI
Ricercatore Confermato, Ist. di Farmacologia, Policlinico «P. Giaccone», Palermo – ISONIAZIDE.
Paolo PANCHERI
Professore Ordinario di Clinica Psichiatrica, Univ. di Roma «La Sapienza» – MANIACODEPRESSIVA PSICOSI.
John W. PARKER
Professor of Pathology, University of Southern California, Los Angeles, California – LINFOMI.
Giorgio PARMIANI
Direttore Divisione Oncologia Sperimentale «D», Ist. Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori, Milano – ONCOFETALI ANTIGENI.
Maria Pia PAROLI
Assistente, Ist. di Oftalmologia, Univ. di Roma «La Sapienza» – LENTI E OCCHIALI.
Ivonne PASQUALI RONCHETTI
Professore Ordinario di Patologia Generale, Univ. di Modena – MICROSCOPIA ELETTRONICA; MICROSCOPIA E MICROSCOPIO.
Silvia PATRIZI
Pediatra e Neonatologo, Ist. di Clinica Pediatrica, Univ. di Roma «La Sapienza» – NEONATO.



Digitized by Google

Paolo PEDERZOLI
Professore Associato di Fisiopatologia Chirurgica, Clinica Chirurgica, Univ. di Verona – LAVAGGIO PERITONEALE.
Giovacchino PEDICELLI
Primario di Radiologia, Ospedale «C. Forlanini», Roma – MEDIASTINO.
Maria Rosa PELIZZO
Professore Associato di Semeiotica Chirurgica, Univ. di Padova – LAPAROCELE.
Giancarlo PEPEU
Professore Ordinario di Farmacologia, Univ. di Firenze – MEDIATORI CHIMICI.
Luigi PESCARINI
Professore Associato di Radiologia, Univ. di Padova – MILZA.
Lamberto PIATTELLI
Professore a Contratto di Tecniche Chirurgiche Ostetriche, Univ. di Chieti; Primario, Divisione di Ostetricia e Ginecologia, Ospedale di Manfredonia – MALATTIA INFIAMMATORIA PELVICA.
Federico PICCOLI
Professore Ordinario di Clinica Malattie Nervose e Mentali, Univ. di Palermo – MEMORIA.
Alberto PIERALLINI
Cattedra di Neuroradiologia, Univ. di Roma «La Sapienza» – MENINGI.
Francesco PIGORINI
Primario, Servizio di Medicina Nucleare, Ospedale «C. Forlanini», Roma – MEDIASTINO.
Giorgio PILATO
Assistente, Clinica Ortopedica, Univ. di Pavia – MANO.
Alberto PINGI
Ospedale «S. Carlo di Nancy», Roma – MUSCOLO.
Martino PISANELLO
Specialista in Radiologia Medica, Ospedale «S. Carlo Di Nancy», Roma – MUSCOLO.
Franco PLUCHINO
Libero Docente in Semeiotica Chirurgica; Primario I Divisione Neurochirurgica, Ist. Neurologico «C. Besta», Milano – LASER.
Mauro PODDA
Professore Ordinario, Cattedra di Medicina Interna, Univ. di Milano – LITOTRISSIA EXTRACORPOREA AD ONDE D'URTO.
Camillo Francesco POLLERA
Aiuto Medico, Divisione Oncologia Medica I, Ist. «Regina Elena», Roma – METASTASI.
Roberto PONCHIETTI
Ist. di Clinica Urologica, Univ. di Firenze – LASER.
Aurelio PORRECA
Aiuto di Chirurgia Pediatrica, Ospedale «Santobono», Napoli – LAPAROSCOPIA.
Riccardo PRATESI
Direttore Ist. di Elettronica Quantistica; Responsabile del Progetto Applicazioni Mediche del Laser del CNR, Firenze – LASER.
Giancarlo PUDDU
Specialista in Ortopedia e Traumatologia; Specialista in Medicina dello Sport; Titolare dell'Insegnamento di Biomeccanica all'ISEF Statale, Roma – MENISCHI E LEGAMENTI.
Paolo Emilio PUDDU
Dottore, Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica, Ist. Superiore di Sanità, Roma – MORTE IMPROVVISA.
Alessandro PUZZIELLO
Dottorando di Ricerca in Microchirurgia, Univ. di Napoli – LASER.
Franco QUADRIFOGLIO
Professore Ordinario di Biologia Molecolare, Univ. di Udine – NUCLEICI ACIDI.
Roberta RAMPONI
Dottoressa, Centro di Elettronica Quantistica e Strumentazione Elettronica del CNR, Politecnico, Milano – LASER.
Claudio RAPEZZI
Aiuto, Ist. Malattie Cardiovascolari, Univ. di Bologna – MIOCARDIOPATIE.
Luciano RAUSA
Professore Ordinario di Farmacologia, Policlinico «P. Giaccone», Palermo – ISONIAZIDE.
Giorgio REALI
Primario del Servizio di Immunoematologia e Trasfusionale, Ospedali Galliera, Genova; Professore a Contratto, Univ. di Genova – ISTOCOMPATIBILITÀ.
Paolo RICCI
Assistente Universitario, Ist. di Radiologia, Univ. di Roma «La Sapienza» – MEDIASTINO.
Vincenzo RICCI
Professore Ordinario di Otorinolaringoiatria, Univ. di Verona – LARINGE.
Giuseppe RIPA
Assistente, Ist. di Patologia e Clinica Otorinolaringoiatrica e di Foniatria, Univ. di Napoli – LASER.
Giovanni ROCCHI
Professore Ordinario, Clinica delle Malattie Infettive, II Univ. di Roma «Tor Vergata» – MORAILLO; NON-A, NON-B EPATITE.
Sergio ROMANI
Professore Ordinario di Radiologia, Univ. di Padova – MILZA.
Michele ROSSI
Assistente Universitario, Ist. di Radiologia, Univ. di Roma «La Sapienza» – MEDIASTINO.
Plinio ROSSI
Professore Ordinario, Ist. di Radiologia, Univ. di Roma «La Sapienza» – MEDIASTINO.
Mario RUBINO
Direttore Ist. di Clinica Chirurgica Generale e Terapia Chirurgica, Univ. di Bari – LASER.
Stefano SAGRATELLA
Medico Chirurgo; Primo Ricercatore, Laboratorio di Farmacologia, Ist. Superiore di Sanità, Roma – NEUROTRASMETTITORI.
Agata SALANITRO
Specialista in Malattie Infettive, II Univ. di Roma «Tor Vergata» – MOBILUNCUS GENERE.
Giovanni SALVIATI
Professore Ordinario di Patologia Generale, Univ. di Padova – MITOCONDRI.
Rosario SAMANIN
Direttore Laboratorio di Neurofarmacologia, Ist. «Mario Negri», Milano – MICRODIALISI.
Sergio SANGUIGNI
Professore Associato in Parassitologia Clinica, Ist. di Clinica delle Malattie Tropicali e Infettive, Univ. di Roma «La Sapienza» – MALARIA.
Pietro SANTOIANNI
Professore Ordinario di Dermatologia; Direttore Clinica Dermatologica, II Univ. di Napoli «Federico II» – LASER.
Luca SANTUCCI
Assistente, Ist. di Gastroenterologia ed Endoscopia Digestiva, Univ. di Perugia – MALASSORBIMENTO, SINDROME DA.
Peppino SAPIA
Assistente Radiologo, Ospedale «C. Forlanini», Roma – MEDIASTINO.
Loredana SARMATI
Ricercatore, Cattedra di Clinica delle Malattie Infettive, II Univ. di Roma «Tor Vergata» – KINGELLA GENERE; NON-A, NON-B EPATITE; NORWALK VIRUS.



Digitized by Google

Davide SCHIFFER
Professore Ordinario di Neurologia; Direttore Clinica Neurologica II, Univ. di Torino – NERVOSO TESSUTO.
Giovanna SCROCCARO
Farmacista Coadiutore, Servizio di Documentazione sul Farmaco, Ospedale Policlinico, Verona – KETANSERINA.
Lewis S. SEIDEN
Professor, Department of Pharmacological and Physiological Sciences, University of Chicago, Illinois – NEUROTOSSINE.
Alberto SELVANETTI
Medico Sportivo, Roma – MENISCHI E LEGAMENTI.
Paolo SERVENTI
Aiuto, Divisione Chirurgia Pediatrica, Ospedale Pediatrico «Bambino Gesù», Roma – NEFROBLASTOMA; NEUROBLASTOMA.
Gino SERRA
Ricercatore Dipartimento di Neuroscienze, Univ. di Cagliari – NEUROLETTICI FARMACI.
Andrea SILVANO
Specializzando in Chirurgia Pediatrica, Ospedale Pediatrico «Bambino Gesù», Roma – NEUROBLASTOMA.
Louise SILVESTRE
Docteur, Institut Roussel UCLAF, Romainville, Francia – MIFEPRISTONE.
Christian J. M. SINDIC
Chef de Clinique Associé, Agrégé, Université Catholique de Louvein, Bruxelles – LIQUOR.
Ettore SOMMA
Aiuto Ortopedico, CTO, Roma – MAGNETOTERAPIA.
Alberto SONA
Presidente del Comitato Tecnico 76 del CEI sulla Sicurezza Laser; Libero Docente Confermato in Elettronica Quantistica, Univ. di Pavia – LASER.
Pasquale SPINELLI
Direttore Divisione di Endoscopia, Ist. Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori, Milano – LASER.
Giuseppe STARACE
Dottore, Ist. di Medicina Sperimentale, CNR, Roma – LASER.
Stefano TAMBURI
Specialista in Oftalmologia, Univ. di Roma «La Sapienza» – OCCHIO.
Claudio TANTUCCI
Ricercatore Confermato, Cattedra di Semeiotica Medica, Univ. di Ancona – OSSIGENOTERAPIA.
Sergio TEDESCO
Aiuto, Ist. di Patologia e Clinica Otorinolaringoiatrica e di Foniatria, Univ. di Napoli – LASER.
Beniamino TESAURO
Professore Ordinario; Direttore I Chirurgia Generale, Univ. di Napoli – LASER.
Vincenzo TESSITORE
Direttore Ist. di Istologia ed Embriologia Generale, Policlinico, Palermo – NEVROGLIA.
Gianfranco TIECCO
Direttore Ist. di Ispezione degli Alimenti, Univ. di Bari – LISTERIOSI.
Fabrizio TOCCACELI
Ricercatore Confermato; Aiuto, Ist. Clinica Malattie Tropicali e Infettive, Univ. di Roma «La Sapienza» – LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO; ORGANOSPECIFICI E NON ORGANOSPECIFICI AUTOANTICORPI.
Umberto TORELLI
Professore Ordinario di Clinica Medica, Univ. di Modena – LEUCEMIE.
Carmela TORRE
Già Primario di Anatomia ed Istologia Patologica, Ospedale «S. Filippo Neri», Roma – MASSON, TUMORE DI; MENINGIOMI.
Franco TOSCANO
Ricercatore Confermato, I Chirurgia Generale, Univ. di Napoli – LASER.
Antonio TOTI
Professore Ordinario di Radiologia, Univ. di Ferrara – MAMMOGRAFIA.
Guido TRASIMENI
Ospedale «S. Carlo di Nancy», Roma – MUSCOLO.
Rosalba TUFANO
Direttore Cattedra di Anestesia e Rianimazione, Univ. di Napoli – MENDELSON, SINDROME DI.
André ULMANN
Institut Roussel UCLAF, Romainville, Francia – MIFEPRISTONE.
Giovanni E. VALENZANO
Dermatologo, Ist. «Regina Elena», Roma – LEUCODISPLASIA.
Luciano VELLA
Già primo Ricercatore, Ist. Superiore di Sanità, Roma; Libero Docente in Microbiologia, Univ. di Roma «La Sapienza» – IVERMECTINA.
Stefano VELLA
Dirigente di Ricerca, Laboratorio di Virologia, Ist. Superiore di Sanità, Roma – MONOCLONALI ANTICORPI; MORBILLO.
Giorgio VELLUTI
Professore Associato di Tisiologia e Malattie dell'Apparato Respiratorio, Univ. di Modena; Direttore Incaricato Divisione di Tisiologia, Policlinico, Modena – LAVAGGIO BRONCOALVEOLARE.
Umberto VERONESI
Direttore Generale, Ist. Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori, Milano – MAMMELLA.
Sergio VESENTINI
Aiuto Ospedaliero in Clinica Chirurgica, Univ. di Verona – LAVAGGIO PERITONEALE.
Giovanni Battista VIGNA
Specialista in Medicina Interna, Dottorando di Ricerca in Aterosclerosi, Siena – LIPOPROTEINE.
Randall S. VOLLERSTEN
Department of Internal Medicine, Division of Rheumatology, Mayo Clinic, Rochester, U.S.A. – OCULOVESTIBOLARE SINDROME.
Antonio VOLPI
Ricercatore Confermato, Cattedra di Clinica delle Malattie Infettive, II Univ. di Roma «Tor Vergata» – MOBILUNCUS GENERE.
Massimo ZUIN
Ricercatore, Cattedra di Medicina Interna, Ist. di Scienze Biomediche «S. Paolo», Milano – LITOTRISSIA EXTRACORPOREA AD ONDE D'URTO.

---

**Errata-corrige** (II volume)

Oreste BUONOMO
Ist. di Clinica Chirurgica, Ospedale «S. Eugenio», II Univ. di Roma «Tor Vergata» – GRAVIDANZA EXTRAUTERINA.

---



Digitized by Google

# Abbreviazioni e simboli

| | |
|---|---|
| A | ampère |
| Å | angström |
| *a* | accelerazione |
| ac. | acido; acidi |
| ACTH | ormone adrenocorticotropo |
| ADH | ormone antidiuretico |
| ADP | adenosindifosfato |
| AMP | adenosinmonofosfato |
| APD (o LAP) | leucina-arilamidasi |
| atm | atmosfera |
| ATP | adenosintrifosfato |
| bar | bar |
| Bq | becquerel ($1\ Bq = 2,7 \cdot 10^{-11}\ Ci$) |
| C | coulomb |
| °C | grado Celsius |
| cal | caloria |
| cd | candela |
| cg | centigrammo |
| Ci | curie |
| cm | centimetro |
| $cm^2$ | centimetro quadrato |
| $cm^3$ | centimetro cubo |
| CP | creatinfosfato |
| CPK | creatinfosfochinasi |
| cpsec; cps | ciclo per secondo |
| d | dalton |
| *d* | densità relativa |
| dB | decibel |
| $DE_{50}$ | dose efficace 50% |
| DL | dose letale |
| $DL_{50}$ | dose letale 50% |
| DL-o (±) | racemico (otticamente inattivo per compensazione esterna) |
| dg | decigrammo |
| dl | decilitro |
| dm | decimetro |
| DML | dose minima letale |
| DNA | acido desossiribonucleico |
| dyn | dine |
| e | elettrone |
| e.v. | via endovenosa |
| η | viscosità |
| ECG | elettrocardiogramma |
| EDTA | acido etilendiaminotetracetico |
| EEG | elettroencefalogramma |
| EMG | elettromiogramma |
| ERG | elettroretinogramma |
| erg | erg |
| *et al.* | *et alii* |
| etc. | eccetera |
| eV | elettronvolt |
| *E*, *W* | energia |
| F | farad |
| *F* | forza |
| FAD | flavin-adenindinucleotide |
| FDP | fruttoso difosfato |
| FECG | elettrocardiogramma fetale |
| FEEG | elettroencefalogramma fetale |
| FMN | flavin-mononucleotide |
| FSH | ormone follicolostimolante |
| g | grammo |
| g/l | grammo a litro |
| *g* | accelerazione di gravità |
| Gy | gray (1 Gy = 100 rad) |
| GGT (o γGT) | γ-glutammiltransferasi |
| GLDH | glutammicodeidrogenasi |
| g./min | giri al minuto |
| GOT | transaminasi glutammico-ossalacetica |
| GPT | transaminasi glutammico-piruvica |
| gtt | gocce |
| *G* (*W*, *P*) | peso |
| G-6-PDH | glicoso-6-fosfatodeidrogenasi |
| γ | fotone |
| γ, σ | tensione superficiale |
| h | ora |
| Hb | emoglobina |
| $HB_sAg$ | antigene di superficie del virus dell'epatite B |
| HCG | gonadotropina corionica umana |
| HGH (o STH) | ormone somatotropo |
| Hz | hertz |
| *I* | forza ionica |
| ICSH | ormone stimolante le cellule interstiziali |
| Ig (A, D, E, G, M) | immunoglobuline e relative classi |
| i.m. | via intramuscolare |
| I.R. | infrarosso |
| J | joule |
| °K | grado kelvin |
| kat | katal (attività catalitica) |
| kcal | chilocaloria (ora kJ; 1 kJ = 0,2389 kcal) |
| kg | chilogrammo |
| kgm | chilogrammetro |
| km | chilometro |
| l; L | litro |
| LAD (o LDH) | lattatodeidrogenasi |
| LAP (o APD) | leucina-arilamidasi |
| LH | ormone luteinizzante |
| lm | lumen |
| *loc. cit.* | luogo citato (riferimento bibliografico) |
| LPH | lipotropine |
| lx | lux |
| λ | lunghezza d'onda |
| *M* | molare |
| m | metro |
| *m*- | meta |
| $m^2$ | metro quadrato |
| $m^3$ | metro cubo |
| mbar | millibar |
| mCi | millicurie |
| mEq/l | milliequivalente al litro |
| MeV | megaelettronvolt |
| mg | milligrammo |
| mg/l | milligrammo a litro |
| min | minuto primo |
| ml | millilitro |
| mm | millimetro |
| mmHg | millimetro di mercurio; pressione (ora Pa [pascal]; 1 kPa = 7,50 mmHg) |
| $mm^2$ | millimetro quadrato |
| $mm^3$ | millimetro cubo |
| mol | mole |
| mol/l | mole a litro |
| msec; ms | millisecondo |
| MSH | ormoni melanotropi |
| mμ (o nm) | millimicron |
| μ (o μm) | micron |
| μbar (= dyn/$cm^2$) | microbar |
| μCi | microcurie |
| μg | microgrammo |
| μm | micrometro |
| μl | microlitro |
| *N* | normale (soluzione) |
| 0,1 *N* | decinormale |
| n | neutrone |
| $Na^+$; $Ca^{2+}$; $PO_4^{3-}$ | ionizzazione: indice dello stato di ionizzazione |
| n.a. | numero atomico |
| NAD | nicotinamide-adenin-dinucleotide |
| NADP | nicotinamide-adenin-dinucleotide fosfato |
| nm | nanometro |
| NEFA | ac. grassi non esterificati |
| N.R. | nome registrato |
| ν, *f* | frequenza |
| *o*- | orto |
| P | poise |
| Pa | pascal |
| *p* | pressione |
| *p*- | para |
| p.a. | peso atomico |
| p.e. | punto di ebollizione |
| p.f. | punto di fusione |
| pH | funzione della concentrazione idrogenionica ($\log \frac{1}{[H^+]}$) |
| PG | prostaglandine |
| PIK (o PK) | piruvatochinasi |
| p.m. | peso molecolare |
| p/p | peso/peso (per esprimere la concentrazione di una soluzione) |
| ppm | parti per milione |
| PRL | prolattina |
| p.s. | peso specifico |
| PTH | paratormone |
| p/v | peso/volume (per esprimere la concentrazione di una soluzione) |
| Π | pressione osmotica |
| *Q* | quantità di calore |
| *q* | carica elettrica |
| R; r | roentgen |
| ρ | densità |
| ® | nome registrato |
| rad | rad (*r*adiation *a*bsorbed *d*ose) |
| rem | rem (*r*em *e*quivalent *m*an; dosimetria delle radiazioni) |
| rep | rep (*r*oentgen *e*quivalent *p*hysical; dosimetria delle radiazioni) |
| R.I.A. | dosaggio radio-immunologico |
| RNA | acido ribonucleico |
| SDH | sorbitolo deidrogenasi |
| s; sec | minuto secondo |
| Sv | sievert (1 Sv = 100 rem) |
| T.A.C. | tomografia assiale computerizzata |
| *sin.* | sinonimo |
| s.l.m. | sul livello del mare |
| *T* | temperatura termodinamica |
| t | tonnellata |
| *t* | temperatura |
| τ | vita media (*mean-life*) |
| $T_{1/2}$ | tempo di dimezzamento (*half-life*) |
| TCT | tirocalcitonina |
| Torr | pressione in mmHg (ora Pa [pascal]; 1 kPa = 7,5 Torr) |
| TSH | ormone tirotropo |
| $T_3$ | triiodotironina |
| $T_4$ | tiroxina |
| U. | unità |
| U.I. | unità internazionale |
| U.V. | ultravioletto |
| V | volt |
| *V* | volume (come grandezza fisica) |
| VES | velocità di eritrosedimentazione |
| v/v | volume/volume (per esprimere la concentrazione di una soluzione) |
| W | watt |
| *W*, *A* | lavoro |
| Ω | ohm |

*Prefissi per indicare i multipli o i sottomultipli di una unità*

| | | |
|---|---|---|
| d | deci | $(10^{-1})$ |
| c | centi | $(10^{-2})$ |
| m | milli | $(10^{-3})$ |
| μ | micro | $(10^{-6})$ |
| n | nano | $(10^{-9})$ |
| p | pico | $(10^{-12})$ |
| h | etto | $(10^{2})$ |
| k | chilo | $(10^{3})$ |
| M | mega | $(10^{6})$ |
| G | giga | $(10^{9})$ |
| T | tera | $(10^{12})$ |

*Simboli matematici*

| | |
|---|---|
| circa uguale | ≈, ≃ |
| differente | ≠, ≠ |
| infinito | ∞ |
| maggiore | > |
| maggiore o uguale | ⩾, ≧, ≥ |
| meno | − |
| minore | < |
| minore o uguale | ⩽, ≦, ≤ |
| molto maggiore | ≫ |
| molto minore | ≪ |
| per cento | % |
| per mille | ‰ |
| più | + |
| più o meno | ± |
| proporzionale | ~, ∝ |
| uguale | = |

# ENCICLOPEDIA MEDICA ITALIANA

Aggiornamento I***

**ISOENZIMI - OZONO**

Digitized by Google

# I

## ISOENZIMI [v. vol. VIII, col. 529]

### Definizione e classificazione

In relazione alle raccomandazioni della Commissione sulla Nomenclatura Biochimica IUPAC-IUB (Unione Internazionale Chimica Pura e Applicata-Unione Internazionale Biochimica) del 1976 è stata adottata ed è tuttora valida la seguente convenzione: il termine *isoenzimi* deve essere ristretto a quelle forme molteplici di enzimi la cui struttura primaria sia geneticamente controllata e non a quelle conseguenti a una modifica post-traslazionale della stessa. Vanno pertanto considerati i.:

a) proteine geneticamente indipendenti;

b) eteropolimeri (ibridi) di due o più catene polipeptidiche, legate in maniera non covalente;

c) varianti genetiche (alleloenzimi).

Nella categoria non vanno invece compresi gli aggregati aventi la stessa sequenza primaria, anche se esistenti sotto forme di peso molecolare e mobilità elettroforetica differenti, e quelle varianti conformazionali che differiscono esclusivamente per la loro struttura tridimensionale. La nomenclatura degli i. deve essere basata sulla migrazione elettroforetica degli stessi. L'elettroforesi è raccomandata come base per la classificazione poiché è una tecnica ampiamente usata e con alto potere risolutivo. Gli i. sono numerati a partire dalle specie che hanno la più alta mobilità verso l'anodo.

Di recente è stata tuttavia osservata una molteplicità di forme enzimatiche dovuta a una differente espressione dello stesso gene attraverso distinti meccanismi di maturazione dell'RNA messaggero, meccanismi che sono ricompresi in quello che viene oggi comunemente denominato «*splicing* alternativo dell'RNA».

La biochimica dello «*splicing* alternativo» è di recente acquisizione e non sono a tutt'oggi noti i meccanismi coinvolti nella regolazione di tale fenomeno, ci sono però delle evidenze di modificazioni programmate del *pattern* di *splicing* nel corso dello sviluppo della cellula e dell'organismo, modificazioni che portano alla produzione di varianti di proteine enzimatiche (i.). Un esempio di genesi di forme isoenzimatiche da un singolo gene è quello relativo all'alcoldeidrogenasi (ADH) di *Drosophila melanogaster*, organismo nel quale la diversità nell'espressione della stessa sequenza genomica si realizza attraverso due fenomeni distinti e cioè l'utilizzo di due diversi promotori della trascrizione e lo *splicing* alternativo del trascritto primario.

L'attività alcoldeidrogenasica nella *Drosophila* cambia in maniera drammatica nei diversi stadi di sviluppo dell'animale e nei diversi tessuti. Sono state individuate forme molecolari differenti di tale enzima, una principalmente rappresentata nella larva e l'altra caratteristica dell'animale allo stato adulto. Gli studi sulla sequenza aminoacidica dell'ADH «larvale» e «adulta», la clonazione del gene strutturale dell'enzima e ulteriori dati genetici hanno dimostrato che esiste un solo gene strutturale per l'ADH nella *Drosophila melanogaster*. Tale gene strutturale, attivo in tutto il corso dello sviluppo dell'animale, è sottoposto a differenti processi di trascrizione e dà luogo pertanto a due distinti mRNA.

### Bibliografia


Breitbart R. E., Andreadis A., Nadal-Ginard B., *Ann. Rev. Biochem.*, 1987, **56**, 467.

Benyajati C., Spoerel N., Haymerle H., Ashburner M., *Cell*, 1983, **33**, 125.

IUPAC-IUB Commission on Biochem. Nomencl., *J. Biol. Chem.*, 1976, **252**, 5939.


GIULIO MAGNI E MONICA EMANUELLI

## ISOLAMENTO [v. vol. VIII, col. 531]

### Isolamento del paziente immunocompromesso

L'isolamento non è esclusivamente una pratica profilattica che ha lo scopo di impedire il propagarsi di un'infezione isolando il malato con una malattia infettiva contagiosa, ma è anche una misura di prevenzione che deve essere in alcuni casi applicata per difendere da possibili infezioni pazienti con gravi deficit immunitari. Infatti nel paziente immunocompromesso le infezioni, siano esse acquisite che riattivate da uno stato di latenza, sono la causa più frequente di morte. Naturalmente il rischio di infezione grave è direttamente correlato al grado di immunocompromis-





Digitized by Google

sione e, quindi, solo i più gravi deficit immunologici richiedono l'attuazione di presidi capaci di prevenire l'insorgenza di malattie infettive. Il più delle volte semplici misure di profilassi quali l'attenta applicazione di norme igieniche, le vaccinazioni, la somministrazione preventiva di chemioterapici o di antibiotici, sono in grado di impedire l'evenienza di infezioni gravi. Per altro, nei casi più severi di immunocompromissione, con deficit dell'immunità cellulare e umorale, soltanto l'i. è in grado di prevenire efficacemente l'occorrenza di infezioni.

Tale situazione si verifica per es. nei soggetti sottoposti a trapianto di organo o tessuto (cuore, midollo osseo, etc.), per i quali nei giorni immediatamente precedenti all'operazione, e per diverse settimane successive, sono previsti intensi cicli di terapia immunosoppressiva necessaria alla prevenzione del rigetto. Altre condizioni patologiche per le quali, in alcuni casi, il grave stato di immunocompromissione rende necessario l'i. del paziente sono i tumori del sistema ematopoietico (leucemie, linfomi, etc.) e alcune gravi immunodeficienze primitive. Anche per il paziente affetto da AIDS, soprattutto in quei casi in cui sia prevista un'assistenza di terapia intensiva, il grave quadro di immunocompromissione può essere motivo, seppur eccezionalmente, di i.

In tutti i casi nei quali sia previsto l'i. a scopo preventivo di un paziente, esso usualmente non avviene in ambienti sterili ma più semplicemente in ambienti a contaminazione «controllata», cioè in stanze di degenza all'interno delle quali sia possibile mantenere la contaminazione biologicamente attiva, sia essa posta sopra delle superfici che sospesa nell'aria, entro limiti ben prefissati. Questo tipo di i. infatti si è dimostrato sufficiente a impedire l'acquisizione di nuove infezioni da parte di pazienti con grave immunocompromissione.

Nelle stanze di i. a contaminazione controllata usualmente non si ricorre a una decontaminazione rigorosa di tutto l'ambiente, ma si assicura l'immissione all'interno di esso di un certo quantitativo di aria «pulita» che, per diluizione, mantiene la contaminazione ambientale ai livelli desiderati. A tal fine la biocontaminazione viene controllata mediante la filtrazione assoluta dell'aria, attraverso filtri costituiti da lana di vetro le cui fibre hanno un diametro inferiore al micron (filtri assoluti o HEPA), e quindi la ridistribuzione dell'aria filtrata nell'ambiente stesso. Con tale sistema è quindi possibile fare affluire nella stanza aria praticamente sterile che, attraversando l'ambiente con moto laminare, rimuove gran parte dei contaminanti presenti al suo interno.

Per quanto attiene alla disinfezione delle superfici interne delle stanze da i. questa viene eseguita con grande efficacia, oltre che con la periodica pulitura con soluzioni antisettiche, con sistemi in grado di diffondere ovunque, quali quelli utilizzanti prodotti gassosi (formaldeide, ozono, etc.) e raggi ultravioletti.

Naturalmente al fine di assicurare un efficace i. del paziente con grave immunocompromissione da eventuali fonti di contagio si devono ridurre al minimo le contaminazioni che possono occorrere attraverso gli alimenti, per mezzo di strumenti utilizzati per indagini diagnostiche o terapeutiche, per trasmissione da parte del personale sanitario di assistenza. Mentre per gli alimenti e le attrezzature diagnostico-terapeutiche numerose e semplici sono le misure di decontaminazione e/o disinfezione, più complessi sono i sistemi che devono essere applicati al fine di impedire la trasmissione di infezioni attraverso il personale di assistenza. A tal fine, per pazienti con gravissime forme di immunodeficienza primitiva (deficit combinati dell'immunità cellulare e umorale), così come per la contumacia di pazienti con infezioni estremamente contagiose e gravi (ad es. febbri emorragiche), l'i. deve essere effettuato in strutture appositamente attrezzate, nelle quali sia possibile indossare da parte del personale di assistenza degli scafandri prima di entrare nelle stanze di degenza, o in centri altamente specializzati dove sia possibile utilizzare dei robot. Normalmente però, in tutti i casi in cui si debba ricorrere a un i. controllato, è sufficiente che, al fine di impedire la trasmissione di infezioni, il personale di assistenza prima di entrare nell'ambiente d'i. indossi indumenti sterili (camice, guanti, sovrascarpe, cuffia, etc.).

**Bibliografia**


Center Disease Control, *National Nosocomial Infections Report*, US DHEW, Public Health Service. Annual summary 1978, Issued March 1981.

Garner J. S., Simmons B. P., *Infect. Control*, 1983, 4, 245.

Mallison G. F., *APIC Newsletter*, 1974, 2 (2).

Mandell J. L., Douglas R. D., Bennett J. E., *Principles and Practice of Infectious Disease*, 1990, 3 ed., Churchill-Livingstone, New York.

Wenzel R. P., Osterman C. A., Donowitz L. G., *Rev. Infect. Dis.*, 1981, 3, 701.

Wenzel R. P., *CRC Handbook of Hospital Acquired Infections*, 1981, CRC Press, Boca Raton.


MASSIMO ANDREONI

## ISONIAZIDE [v. vol. VIII, col. 565]

**Tossicità**

La tossicità dell'isoniazide, studiata su oltre 2000 pazienti trattati, ammonta al 5,4%. Le reazioni più frequenti sono: *rash* (2%), febbre (1%); ittero (0,6%), nevrite periferica (0,2%).

Una ipersensibilità al farmaco è responsabile della febbre e di manifestazioni cutanee di vario aspetto. Sono state descritte, inoltre, porpora, reazioni orticariodi e gravi reazioni ematologiche (agranulocitosi, trombocitopenia, anemia). La presenza di anticorpi antinucleari può essere responsabile della sintomatologia artritica.

Il maggior effetto collaterale dell'i. è costituito dalla epatite tossica, probabilmente mediata dalla formazione di prodotti intermedi, quali l'acetilidrazina. In uno studio durato 14 anni su pazienti di età compresa tra i 5 ed i 73 anni, Moulding *et al.* hanno riportato 20 casi di morte per epatite in pazienti trattati con i. ed etambutolo: 19 hanno colpito pazienti che ricevevano l'i. per la chemioprofilassi della tubercolosi ed un caso si è verificato in un paziente trattato contemporaneamente con i. ed etambutolo.

Se non viene somministrata Vit. $B_6$, circa il 2% dei pazienti che ricevono 5 mg/kg al giorno di i. presenta nevrite periferica. Con dosi maggiori (6 mg/kg al giorno) il 17% dei pazienti presenta quadri di nevrite periferica che si associa ad alterazioni patologiche quali: scomparsa delle vescicole sinaptiche, condensazione dei mitocondri, frammentazione delle terminazioni assoniche, alterazioni dei gangli spinali lombari e sacrali e del midollo.

Con dosi ancora più forti si possono manifestare convulsioni; questa patologia sarebbe dovuta ad una competizione per la triptofano-idrossilasi tra farmaco e piridossalfosfato; questi disturbi possono essere evitati somministrando larghe dosi di Vit. $B_6$. Sono ascrivibili alla tossicità dose-dipendente, la nevrite ottica con atrofia, le parestesie, l'encefalopatia tossica e i disordini mentali. Meno frequenti la secchezza delle fauci e la ritenzione urinaria.

**Attualità terapeutiche**

La dose più usata è di 3-7 mg/kg da distribuire in 2-3 volte, nelle 24 h.



Digitized by Google

Quando si impiega una posologia maggiore (10-12 mg/kg), consigliata nelle forme morbose più gravi, è necessario sorvegliare il malato, in modo da rilevare la possibile insorgenza di fenomeni secondari.

Il farmaco va usato con cautela negli individui con ridotta funzionalità renale ed epatica e negli epilettici. Si somministra *per os*; alla via parenterale (i. m., e. v., endopleurica o endorachidea) si ricorre solo nei casi in cui quella orale non possa venire impiegata o quando la gravità del caso imponga un rapido intervento.

La necessità di evitare l'insorgenza della resistenza batterica consiglia l'impiego di i. in associazione con gli altri tre antitubercolari maggiori (rifampicina, pirazinamide, etambutolo) o con due o tre minori (streptomicina, ac. *p*-aminosalicilico, cicloserina, capreomicina, viomicina, etionamide, tiocarlide).

L'i. resta il farmaco più importante nel trattamento di tutti i tipi di tubercolosi (v.). A parte i problemi tossicologici precedentemente citati, sono da tenere presenti le interazioni che l'i. può intrattenere con vari farmaci. Così l'i. non va associato ad antiacidi a base di idrossido di alluminio in quanto questi ultimi riducono l'assorbimento gastrointestinale. È utile ricordare ancora che l'i. inibisce i processi di acetilazione e di metabolizzazione di fenitoina, carbamazepina e di alcuni anticoagulanti orali. La epatotossicità può essere esaltata dall'associazione con la rifampicina ed infine pericolosa può essere l'associazione con il niridazolo perché potenzia la neurotossicità di quest'ultimo.

**Bibliografia**

Covi M., Velluti G., *Medicina-Riv. EMI*, 1989, **9**, 355-374, *bibl.*
*Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 8 ed., 1990, Pergamon Press, New York.
Moulding S. T., Redeker G. A., Kanel G. C., *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1989, **140**, 700-705.

LUCIANO RAUSA E SERGIO PALMERI

## ISOSPORA GENERE

Genere di protozoi, agenti etiologici della coccidiosi (v.). La specie *Isospora belli* frequentemente determina grave diarrea e diminuzione di peso nei soggetti affetti da sindrome da immunodeficienza acquisita (v.*).

V. anche: COCCIDIOSI*.

**Bibliografia**

DeHovitz J. A. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1986, **315**, 87.

RED.

**ISOSPORIASI**: v. COCCIDIOSI (IV, 298); COCCIDIOSI*; v. anche: SINDROME DA IMMUNODEFICIENZA ACQUISITA.

## ISOTOPI [v. vol. VIII, col. 576]

**Aggiornamento sulle applicazioni diagnostiche e terapeutiche degli isotopi radioattivi** (VIII, 599)

Le applicazioni mediche degli isotopi radioattivi riguardano la *medicina nucleare* (v. NUCLEARE MEDICINA). I campi di applicazione della medicina nucleare debbono essere lievemente aggiornati rispetto allo schema riportato nella II edizione, a causa sia di una migliore e più approfondita conoscenza dei processi metabolici e funzionali in senso lato, sia del perfezionamento degli strumenti di rilevazione e di misura della radioattività, sia infine per l'introduzione di nuovi radiocomposti nella terapia radiometabolica.

Una sintesi dei contenuti della medicina nucleare sufficientemente aggiornata è riportata nella tab. I.

Attualmente le metodologie di conteggio della radioattività presente nel paziente dopo somministrazione di traccianti radioattivi non vengono più distinte nei 4 tipi riportati nella stesura precedente della voce ISOTOPI (VIII, 600), in quanto le misure di captazione, la costruzione di curve

**TAB. I. SINTESI DEI CONTENUTI DELLA MEDICINA NUCLEARE**
(da A. Centi Colella, *Manuale di Medicina Nucleare*, 1988, EUS, Roma)

| **Diagnostica** | | |
|---|---|---|
| 1) Studi dinamico-funzionali | a) determinazioni di flusso | |
| | b) valutazione di funzione parenchimale | — attività secretoria ed incretoria<br>— attività escretoria |
| | c) misure di ritenzione corporea nel tempo di traccianti mediante conteggio della radioattività totale (a fondo normale ed a basso fondo). | |
| 2) Studi morfo-funzionali | a) scintigrafia sequenziale rapida (o angioscintigrafia)<br>b) scintigrafia sequenziale lenta (o scintigrafia funzionale analogica) | |
| | c) scansioscintigrafia e scintigrafia con gamma camera | — con traccianti di organo<br>— con traccianti di lesioni |
| 3) Studi con gamma camera computerizzata (dinamico- e morfo-funzionali) | a) scintigrafia parametrica (o scintigrafia funzionale digitale) | |
| | b) tomografia computerizzata da emissione (ECT) | — tomografia da emissione di fotone singolo (SPET)<br>— tomografia da emissione di positroni (PET) |
| 4) Dosaggi radioimmunometrici (metodologie *in vitro*) | a) Dosaggio con antigeni marcati (RIA)<br>b) Dosaggio con anticorpi marcati (IRMA) | |
| **Terapia radiometabolica** | | |
| I) Ipertiroidismi (con $^{131}I$ e $^{125}I$) e cancro tiroideo funzionante (con $^{131}I$) | | |
| II) Policitemia vera (con $^{32}P$) | | |
| III) Versamenti sierosi neoplastici e da artrite reumatoide (con radiocolloidi marcati con $^{198}Au$, $^{90}Y$, $^{32}P$) | | |
| IV) Tumori di origine dalla cresta neurale (con MIBG-$^{131}I$) | | |





Digitized by Google

**TAB. II. TRACCIANTI RADIOATTIVI PER LO STUDIO DI ORGANI E TESSUTI**

| Traccianti | Organo o tessuto | Energia radiazione gamma o X (KeV) | Modalità di fissazione tessutale del radioindicatore | Dose radiazione organo in rad/mCi* |
|---|---|---|---|---|
| $^{131}$I-ioduro di Na | Tiroide | 360 | attività metabolica endocrina | 2156 |
| $^{122}$I-ioduro di Na | » | 159 | attività metabolica endocrina | 33 |
| $^{99m}$Tc-pertecnetato di Na | » | 140 | attività di «intrappolamento» | 0,1 |
| $^{198}$Au colloidale | Fegato | 411 | attività colloidopessica | 39 |
| $^{99m}$Tc solfuro colloidale | » | 140 | attività colloidopessica | 0,34 |
| $^{99m}$Tc-HIDA (1) e derivati | » | 140 | attività di membrana epatocitica | 0,06 (fegato)<br>0,6 (intestino) |
| $^{99m}$Tc-DMSA (2) | Rene | 140 | secrezione tubulare | 0,63 |
| $^{99m}$Tc-gluconato di Ca | » | 140 | filtrazione glomerulare e riassorbimento tubulare | 0,21 |
| $^{99m}$Tc-DTPA (3) | » | 140 | filtrazione glomerulare | 0,12 (vescica) |
| $^{123}$I-Hippuran | » | 159 | secrezione tubulare | 0,47 (vescica) |
| $^{99m}$Tc-MAG-3 (4) | » | 140 | secrezione tubulare | 0,12 (vescica) |
| $^{11}$C-metiooina | Pancreas e paratiroidi | 511 | attività metabolica ghiandolare | 25 (fegato) |
| $^{11}$C-triptofano | Pancreas | 511 | attività metabolica ghiandolare | 0,14 |
| $^{201}$Tl-cloruro | Paratiroidi | 69/83 | attività funzionale | 1,2 (rene) |
| emazie marcate con $^{197}$Hg-BMHP (5) | Milza | 77 | attività emocateretica | 5,0 (rene) |
| idem con $^{51}$Cr | » | 320 | attività emocateretica | 32 |
| idem con $^{99m}$Tc | » | 140 | attività emocateretica | 0,43 |
| $^{198}$Au-colloidale | Midollo osseo | 411 | attività colloidopessica | 2,7 |
| $^{99m}$Tc-nanocolloidi | » | 140 | attività colloidopessica | 0,34 (fegato) |
| citrato di $^{59}$Fe o | » | 1110/1240 | attività emopoietica | 200 (milza) |
| cloruro di $^{111}$In | » | 173/247 | attività emopoietica | 4,5 (fegato) |
| $^{99m}$Tc-fosfati e fosfonati | Scheletro | 140 | attività metabolica tessutale | 0,2 (vescica) |
| $^{99m}$Tc-pertecnetato di Na | Encefalo | 140 | fissazione cerebrale solo in condizioni patologiche | 0,25 (stomaco) |
| $^{197}$Hg-oeohydrin | » | 77 | » | 100 (rene) |
| $^{99m}$Tc-gluconato di Ca | » | 140 | » | 0,21 (rene) |

*segue*

radioattività/tempo e le metodologie scintigrafiche possono essere svolte contemporaneamente mediante la gamma camera assistita da computer, che costituisce l'apparecchio universale per lo studio del paziente con tecniche medico-nucleari (v. SCINTIGRAFIA).

Gli organi che possono essere esplorati mediante traccianti radioattivi sono molteplici. Quelli maggiormente oggetto di studio computerizzato sono il cuore ed il cervello, seguiti dal rene, dal polmone, dal fegato e dallo scheletro; inoltre l'introduzione di tecniche di marcatura di cellule autologhe (globuli rossi, leucociti, trombociti) ha consentito di ottenere, attraverso l'osservazione della loro cinetica, informazioni quantitative e rilievi di localizzazione estremamente utili per la diagnosi e per il *follow-up* di molteplici affezioni.

Un elenco dei traccianti di più frequente impiego, delle loro caratteristiche fisiche e biologiche e delle dosi di radiazioni assorbite è riportato nella tab. II.

I traccianti radioattivi possono essere suddivisi in 2 gruppi fondamentali: traccianti d'organo e traccianti di lesione. I *primi* sono costituiti da molecole marcate, le quali presentano tropismo elettivo verso determinati organi dei quali quindi è possibile valutare, attraverso lo studio scintigrafico, i caratteri (sede, forma, dimensioni) e, in particolare, la funzione distrettuale (ad es. $^{131}$I-ioduro per la tiroide). L'impiego dei traccianti d'organo è trattato nelle voci relative a ciascuno di questi ultimi e in parte nella voce SCINTIGRAFIA alle quali si rinvia il lettore.

I *traccianti di lesione* sono rappresentati da composti o da cellule marcate, i quali si concentrano nei tessuti patologici o reattivi, evidenziandone, oltre alla presenza, l'estensione ed il grado di attività metabolico-funzionale (ad es. leucociti autologhi marcati per lo studio delle infiammazioni/infezioni). Per la peculiarità del loro comportamento e in particolare per la specificità di fissazione, i traccianti di lesione consentono in molti casi di risolvere il problema diagnostico-differenziale, che al contrario non può essere affrontato con i traccianti di organo. Uno schema semplificato della tipologia di tali traccianti è riportato nella tab. III.





Digitized by Google

*segue* **TAB. II.**

| Traccianti | Organo o tessuto | Energia radiazione gamma o X (KeV) | Modalità di fissazione tessutale del radioindicatore | Dose radiazione organo in rad/mCi* |
|---|---|---|---|---|
| $^{123}$I-IMP (6) | Cervello | 159 | fissazione cerebrale per flusso | 0,6 |
| $^{123}$I-HIPDN (7) | » | 159 | » | 0,6 |
| $^{99m}$Tc-HM-PAO (8) | » | 140 | » | 0,4 |
| $^{99m}$Tc-albumina (microsfere o macroaggregati) | Polmone | 140 | embolizzazione capillare (scintigrafia perfusoria)<br>aderenza alle pareti alveolo-capillari per inalazione (scintigrafia inalatoria) | 0,2 |
| $^{99m}$Tc-pertecnetato di Na | Ghiandole salivari | 140 | attività metabolica esocrina | 0,25 (stomaco) |
| $^{99m}$Tc-albumina | Cuore e vasi | 140 | diffusione nel compartimento ematico | 0,063 |
| $^{201}$Tl-cloruro | Cuore | 69/83 | fissazione miocardica per flusso e metabolismo | 1,2 |
| $^{99m}$Tc-MIBI (9) | » | 140 | fissazione miocardica per flusso | 0,017 |
| $^{123}$I-IPPA (10) | » | 159 | fissazione miocardica metabolica | 0,04 |
| $^{18}$F-FDG (11) | » | 511 | attività metabolica | 0,44 (vescica) |
| $^{131}$I-iodiocolesterolo | Surreni | 360 | attività metabolica endocrina | 25-30 |
| $^{198}$Au colloidale | Sistema linfatico | 411 | trasporto linfatico e fissazione | 2,7 |
| $^{99m}$Tc-solfuro colloidale | » | 140 | attività gangliare colloidopessica | 101 (sede iniezione) |
| $^{67}$Ga-citrato | Neoplasie maligne | 93/184/295 | attività metabolica proteica cellulare | 2 (rene) |
| $^{111}$In-bleomicina | » | 173/247 | attività metabolica nucleare | 0,7 (vescica) |
| $^{67}$Ga-citrato | Infiammazioni ascessuali | 93/184/295 | attività metabolica proteica cellulare | 0,9 (intestino) |
| $^{111}$In-leucociti | » | 173/247 | attività leucotropa | 17 |

(1) HIDA = ac. dimetilacetoanilidoimminoacetico
(2) DMSA = ac. dimercaptosuccinico
(3) DTPA = ac. dietilentriaminopentacetico
(4) MAG-3 = mercaptoacetiltriglicina
(5) BMHP = bromomercuridrossipropano
(6) IMP = isopropilparaiodioanfetamina
(7) HIPDM = trimetilidrossilmetiliodiobenzilpropandiamina
(8) HM-PAO = esametilpropilenaminaossima
(9) MIBI = metossiisobutilisonitrile
(10) IPPA = ac. iodiofenilpentadecanoico
(11) FDG = fluorodesossiglicoso

* Tra parentesi l'organo critico se questi non coincide con quello citato nella II colonna.

Alcuni traccianti di lesione, venendo captati dal tessuto patologico con meccanismo metabolico aspecifico, sono impiegati per lo studio di patologie diverse e pertanto presentano una non elevata utilità in chiave diagnostico-differenziale: un esempio è rappresentato dal citrato di $^{67}$Ga che viene incorporato sia da tumori maligni sia da processi infiammatori poichè presenta un meccanismo di fissazione legato ai processi di sintesi proteica. Al contrario, i leucociti autologhi marcati si concentrano esclusivamente nei focolai di infiammazione/infezione per il noto meccanismo di

**TAB. III. TIPOLOGIA DEI TRACCIANTI DI LESIONE**

| Meccanismo di fissazione | Tumori | Infiammazioni | Processi degenerativi |
|---|---|---|---|
| Attività metabolica | Citrato di $^{67}$Ga<br>Cloruro di $^{201}$Tl<br>FDG-$^{18}$F | Citrato di $^{67}$Ga | Piastrine-$^{111}$In |
| Reazione antigene-anticorpo | Anticorpi monoclonali verso antigeni tumorali marcati con vari radionuclidi ($^{131}$I, $^{111}$In, $^{99m}$Tc) | IgG umane aspecifiche marcate con $^{99m}$Tc | Anticorpi monoclonali antimiosina-$^{111}$In |
| Reazione immunitaria cellulo-mediata | | Leucociti marcati con $^{111}$In o $^{99m}$Tc | |

chemiotassi, fornendo in tal modo informazioni decisive in ordine alla diagnosi di sede e di natura del processo.

Di notevole interesse, particolarmente dal punto di vista oncologico, risultano gli anticorpi monoclonali marcati, specifici verso particolari antigeni espressi da tumori, quali ad es. il melanoma ed il carcinoma colorettale. Nel primo, la immunoscintigrafia con frammenti anticorpali bivalenti [F(ab')$_2$], frequentemente espletata con tecnica tomografica (SPET), ha permesso di raggiungere una sensibilità diagnostica complessiva apprezzabile (70% su 254 pazienti, secondo Siccardi *et al.*, 1986); per il melanoma oculare si è raggiunta una sensibilità del 93% (Bomanji *et al.*, 1988). Nel carcinoma colorettale si sono ottenute, mediante anticorpi monoclonali antiCEA, su 58 casi con localizzazioni multiple, una sensibilità ed una specificità globali rispettivamente dell'80 e del 91% (Goldenberg *et al.*, 1989). I risultati migliori si realizzano nelle recidive, anche perché il modello di riferimento è costituito dallo stesso paziente. La capacità di rilevazione è influenzata dalle dimensioni delle lesioni: per diametro uguale o inferiore a 2 cm, si è ottenuta una sensibilità del 64%, per valori superiori, dell'84% (Siccardi *et al.*, 1989).

Di particolare interesse sono i traccianti con marcatori positronici che vengono impiegati nella tomografia ad emissione di positroni (PET). In tali composti possono essere facilmente inseriti vari nuclidi positroni-emittenti prodotti da ciclotrone tra i quali alcuni ($^{11}C$, $^{13}N$, $^{15}O$) i. di costituenti normali delle molecole organiche. La marcatura non determina alterazioni della struttura chimica e nello stesso tempo consente la visualizzazione della distribuzione spaziale e la determinazione quantitativa in termini assoluti (mg/ml/g di tessuto) della concentrazione delle molecole, che generalmente avviene per meccanismi di tipo metabolico. Si ottiene in tal modo una mappa vitale della distribuzione e dell'entità di una determinata funzione con possibilità di valutare anche modeste alterazioni distrettuali che, se non opportunamente corrette, possono successivamente condurre alle modificazioni strutturali che sono alla base dei processi morbosi.

Nella tab. IV sono riportati i traccianti positronici di più diffuso impiego.

**TAB. IV. TRACCIANTI MARCATI CON RADIONUCLIDI POSITRONI-EMITTENTI**

| | |
|---|---|
| *Flusso ematico cerebrale* | $H_2{}^{15}O$, $C^{15}O_2$, $^{77}Kr$, $CH_3$-$^{18}F$, antipirina-$^{18}F$, alcol marcati con $^{11}C$, $^{13}NH_3$, etanolo-$^{18}F$ |
| *Volume ematico cerebrale* | $^{11}CO$, $C^{15}O$, EDTA-$^{68}Ga$, $^{11}CO_2$ |
| *Trasporto e metabolismo* | |
| Ossigeno | $^{15}O_2$ |
| Glicoso | fluoro-desossiglicoso-$^{18}F$, glicoso-$^{11}C$ |
| Aminoacidi | valina-$^{11}C$, alanina-$^{11}C$, metionina-$^{11}C$, triptofano-$^{11}C$, leucina-$^{11}C$ |
| Acidi grassi | ac. palmitico-$^{11}C$, ac. oleico-$^{11}C$, ac. eptadecanoico-$^{11}C$ |
| *Sintesi proteica* | L-leucina-$^{11}C$, L-metionina-$^{11}C$ |
| *Sintesi dopaminica* | L-DOPA-$^{18}F$, L-DOPA-$^{11}C$ |
| *Distribuzione dei recettori* | |
| Dopaminici | Spiperone-$^{18}F$, spiperone-$^{11}C$, bromo-spiperone-$^{75}Br$ (o $^{76}Br$), metil-spiperone-$^{11}C$, etil-spiperone-$^{18}F$ |
| Benzodiazepine | Flunitrazepam-$^{11}C$ |
| Oppiacei | Etorfina-$^{11}C$, morfina-$^{11}C$, carfentanil-$^{11}C$, eroina-$^{11}C$ |
| Adrenergici | Noradrenalina-$^{11}C$, propranololo-$^{11}C$ |
| Anticonvulsivanti | Difenil-idantoina-$^{11}C$ |
| *Diffusione molecolare* | EDTA-$^{68}Ga$, $^{82}Rb$ |

In campo terapeutico sono stati recentemente proposti alcuni composti marcati con radionuclidi gamma- e beta-emittenti, i quali, concentrandosi selettivamente in alcuni tumori con meccanismi vari, forniscono a questi una dose di radiazione che ne determina la distruzione o, quanto meno, ne ritardano l'evoluzione. Tra questi la metaiodiobenzilguanidina-$^{131}I$, analoga della noradrenalina, che da qualche tempo è impiegata per la localizzazione scintigrafica del feocromocitoma (Wieland *et al.*, 1980), è risultata utile, per somministrazione in dosi elevate, nella terapia radiometabolica di questo tumore, del carcinoma midollare della tiroide e del neuroblastoma, forme neuroendocrine appartenenti al sistema APUD. I risultati sono apprezzabili: in oltre il 50% dei pazienti affetti da feocromocitoma si osserva generalmente una risposta positiva; meno efficace è il trattamento in casi di neuroblastoma. La terapia radiometabolica sembra risultare più valida se eseguita dopo exeresi chirurgica della massa neoplastica (Troncone, 1989).

**Bibliografia**

Bomanji J., Nimmon C. C., Hungerford J. L. *et al.*, *J. Nucl. Med.*, 1988, 29, 1031.

Centi Colella A., *Manuale di Medicina Nucleare*, 1988, E.U.S., Roma.

Goldenberg D. M., Goldenberg H. G., Sharkey R. M. *et al.*, *Semin. Nucl. Med.*, 1989, **19**, 262.

Siccardi A. G., Buraggi G. L., Callegaro L., Centi Colella A. *et al.*, *Cancer Research*, 1989, **49**, 3095.

Troncone L., in *La Medicina Nucleare nella pratica clinica, Atti 1° Corso/Convegno 1989, Maratea*, p. 41.

Wieland D. N., Wu J. I., Brown L. E. *et al.*, *J. Nucl. Med.*, 1980, **21**, 349.

ANTONIO CENTI COLELLA

**ISOTRETINOINA**: v. RETINOIDI (XIII, 1086); RETINOIDI*; ACNE VOLGARE*.

**ISTIOCITOSI X** [v. vol. VIII, col. 692]

SOMMARIO



**Introduzione**

La denominazione di *istiocitosi X*, proposta da Lichtenstein negli anni '50, comprendeva tre differenti situazioni cliniche: il granuloma eosinofilo unifocale, la malattia di Letterer-Siwe, la sindrome di Hand-Schüller-Christian e veri e propri quadri di proliferazione neoplastica di istiociti indifferenziati.

Il riconoscimento delle cellule di Langerhans (indicate anche come «cellule dell'istiocitosi X») quale elemento morfologico caratteristico del granuloma eosinofilo unifocale, della malattia di Letterer-Siwe e della sindrome di Hand-Schüller-Christian, ha fatto sostituire il termine *istiocitosi X* con quello di *granulomatosi a cellule di Langerhans* mentre la distinzione dell'istiocitosi nelle tre varianti prima ricordate non viene attualmente più accettata.

Occorre altresì sottolineare che la *sindrome di Hand-Schüller-Christian* (con la caratteristica triade sintomatologica costituita da diabete insipido, esoftalmo e lesioni ossee), che rappresenta, come già detto, la forma da più lungo tempo conosciuta, riscontrabile in circa il 25% dei





Digitized by Google

casi di granuloma esosinofilo, può essere presente anche in corso di malattie neoplastiche come linfomi e carcinomi.

Infine la *malattia di Letterer-Siwe* viene oggi considerata dalla maggior parte degli AA. come una particolare forma di linfoma maligno e viene pertanto tenuta distinta sia dal granuloma eosinofilo che dalla sindrome di Hand-Schüller-Christian.

**Etiologia**

L'etiologia della malattia è ancora sconosciuta. L'ipotesi dell'origine virale non ha trovato conferme sperimentali, così come l'ipotesi che possa trattarsi di una forma di tesaurismosi lipidica non è stata convalidata dalle indagini di natura biochimica.

**Istopatologia**

La *granulomatosi a cellule di Langerhans*, dal punto di vista istologico, è caratterizzata da aggregati di eosinofili maturi e da cellule di Langerhans, rappresentate da voluminose cellule con nucleo di forma irregolare e citoplasma pallido, schiumoso, vacuolizzato ed infiltrato da abbondante materiale lipidico espressione dell'intensa attività fagocitaria. A tale processo si accompagna quasi sempre una importante infiltrazione di eosinofili, mentre è più rara quella di linfociti, plasmacellule e neutrofili (v. ISTIOCITOSI X, VIII, 693, fig. 1). Si possono inoltre osservare focolai di necrosi e, fra gli istiociti, cellule con citoplasma compatto ed elementi giganti multinucleati.

Le cellule di Langerhans sono rappresentate da elementi del sistema reticolo-istiocitario (v. RETICOLO-ISTIOCITARIO, SISTEMA, XIII, 1015) di origine midollare, che si reperiscono di norma tra gli elementi epidermici della cute e solo eccezionalmente nelle aree B-linfocitarie dei linfonodi e nella midollare del timo; contengono i caratteristici granuli citoplasmatici (*granuli di Birbeck*) ed enzimi quali l'adenosintrifosfatasi e l'α-naftil-acetato-esterasi. Tra i *markers* di membrana di queste cellule sono da segnalare gli antigeni di classe II del sistema maggiore di istocompatibilità (Ia) (MHC; v. HLA*; ISTOCOMPATIBILITÀ*) e l'antigene T6, che viene pure espresso dai timociti corticali immaturi.

Le cellule di Langerhans (CL) rappresentano il 3-8% delle cellule epidermiche della cute dell'adulto. Al microscopio ottico appaiono come cellule istiocitoidi, di dimensioni intermedie tra i linfociti ed i macrofagi, con abbondante citoplasma basofilo e un grande nucleo pallido che spesso mostra ripiegature e incisure. L'esame in microscopia elettronica mette in evidenza, oltre a numerosi vacuoli e vescicole, i caratteristici granuli di Birbeck che vengono attualmente considerati un elemento patognomonico per riconoscere la cellula (v. TEGUMENTARIO, SISTEMA, XIV, 1901).

La tipizzazione della cellula di Langerhans con anticorpi monoclonali rivela i marcatori CD11b/Mo1, CD11c/KB90, CD18, My4(CDw14), il My7(CDw13) e l'HLA-DR, specifici della linea monocitomacrofagica, con la quale le CL hanno anche in comune il recettore per l'Fc delle IgG e per i prodotti di scissione della terza frazione complementare, mentre l'espressione del CD1(T6) le distingue sia dai macrofagi che dalle altre cellule immunocompetenti che possono essere presenti nell'ambiente epiteliale. Il CD1 è una glicoproteina di 49 kd associata alla β2-microglobulina e ciò ha fatto considerare questo antigene come una frazione dell'MHC di classe I. È, inoltre, possibile discriminare alcune sottospecie di cellule di Langerhans sulla base della differente espressione delle molecole di classe II e della densità degli antigeni CD1 e CD4 sulla superficie. Ciò ha indicato il diverso grado di differenziazione cellulare e le modificazioni funzionali che distinguono la cellula normale da quella patologica.

Nelle CL la comparsa dei *granuli di Birbeck* nel citoplasma è probabilmente legata ad un meccanismo di endocitosi. Questi rappresenterebbero un sistema di trasporto endocellulare del CD1, dal centro della cellula (apparato del Golgi, endosomi) verso una destinazione sconosciuta. È stato dimostrato che la coniugazione dei granuli di Birbeck con l'anti-CD1 è in grado di internalizzare il CD1 nelle cellule dell'i. X in strutture connesse alla membrana cellulare identiche ai granuli per forma e dimensioni.

Le cellule di Langerhans producono un *epidermal cell thymocyte-activating factor* (ETAF) che ha le stesse attività biologiche dell'IL-1 monocitaria: induzione della proliferazione T-cellulare, dell'attività chemotattica leucocitaria, delle proteine della fase acuta, mediazione della febbre e stimolazione della proliferazione fibroblastica. In un confronto tra le capacità funzionali dei monociti di sangue periferico e delle cellule di Langerhans, è stato dimostrato che i primi producono maggiori quantità di IL-1, mentre le CL sono provviste di capacità molto superiore nell'attivare linfociti T autologhi ed allogenici e nel potenziarne la proliferazione.

Come già detto, le cellule di Langerhans sono elementi di derivazione midollare. Raggiunta la cute l'omeostasi è garantita anche da una proliferazione locale: l'analisi del contenuto di DNA di tali cellule, eseguita in citometria a flusso, dimostra elementi nelle diverse fasi del ciclo cellulare, confermando che le CL costituiscono una popolazione ciclica in grado di riprodursi *in situ*.

Le lesioni che coinvolgono lo scheletro si manifestano in piena struttura ossea; hanno consistenza molle e colorito rosa-giallastro; quelle cutanee si localizzano nel derma, ma possono interessare anche l'epidermide e quelle a carico dell'apparato respiratorio sono reperibili nelle pareti bronchiolari e nei setti interalveolari con conseguente compromissione vascolare e fibrosi secondaria.

Gli infiltrati presenti nei linfonodi sono estremamente proliferanti nonostante non venga sovvertita la struttura di base e venga risparmiata la capsula.

L'evoluzione della lesione istologica può essere schematizzata in 4 tappe sequenziali:

1) *proliferativa*;
2) *granulomatosa*, con infiltrazione leucocitaria;
3) *xantomatosa*, con tesaurismosi lipidica, soprattutto colesteroliea, nel citoplasma;
4) *fibrosa*, con trasformazione fibroblastica degli istiociti.

**Forme cliniche**

La vecchia distinzione della malattia in forme differenti non viene oggi più accettata in considerazione del suo polimorfismo clinico, della possibile esistenza di forme di passaggio e dell'evoluzione della patologia, che può risentire di diversi provvedimenti terapeutici. Pertanto attualmente la maggior parte degli AA. suddivide la *granulomatosi a cellule di Langerhans* in due gruppi fondamentali: unifocale e plurifocale.

La *granulomatosi unifocale* (o granuloma eosinofilo dell'osso) è una malattia per lo più benigna che colpisce soprattutto i bambini ed i giovani adulti (rapporto maschi/femmine 3 : 1) (v. ISTIOCITOSI X, VIII, 694, fig. 2). Eccezionale oltre i 60 anni di età, si presenta sotto forma di una lesione osteolitica solitaria che può interessare più frequentemente il femore, il cranio, le vertebre, le coste e solo di rado il bacino. In alcuni casi la sintomatologia dolorosa può precedere l'evidenza radiologica; talora l'interessamento di una struttura ossea superficiale può essere messo in evidenza da un'area di ridotta resistenza o, solo raramente, dalla comparsa di fratture spontanee. Tale forma può regredire senza lasciare sequele. Il suo riscontro deve tuttavia indurre ad una attenta ricerca polisistemica di altre eventuali localizzazioni e ad un *follow-up* periodico allo scopo di precisare se il granuloma non rappresenti la manifestazione iniziale di una patologia a prognosi più severa. Le altre possibili localizzazioni unifocali sono rappresentate dalle forme: linfonodale, epatica, anale, genitale, del cavo orale e polmonare (quest'ultima prevale nel soggetto adulto).

Non esistendo alterazioni evidenziabili con esami di laboratorio, la diagnosi è squisitamente istologica.





Digitized by Google

La *granulomatosi a cellule di Langerhans plurifocale* colpisce generalmente l'età pediatrica ed è caratterizzata da lesioni ossee multiple che finiscono con l'interessare praticamente l'intero scheletro; risultano tuttavia eccezionali le localizzazioni a carico delle mani e dei piedi. Le ossa craniche sono colpite in circa il 60% dei casi (v. ISTIOCITOSI X, VIII, 695, fig. 3). Le lesioni a carico della regione petromastoidea possono determinare l'insorgenza di un'otorrea cronica così come il coinvolgimento dell'orbita può comportare esoftalmo.

In circa un terzo dei casi è presente un diabete insipido da interessamento ipotalamico con sviluppo della sindrome di Hand-Schüller-Christian. Circa il 25-30% dei pazienti sviluppa epatosplenomegalia e compromissione polmonare e nel 50% dei casi è presente una linfoadenopatia per lo più generalizzata. Assai frequenti sono le lesioni cutanee. Per il coinvolgimento del midollo, il quadro clinico si arricchisce spesso dell'anemia e della piastrinopenia. Possono inoltre essere presenti lesioni a carico della vulva, della vagina, delle gengive e del timo.

I test di laboratorio non sono di aiuto per far porre la diagnosi che, anche in questo caso, è affidata alla biopsia delle lesioni.

Nel 1987 The Writing Group of the Histiocyte Society ha indicato i criteri istopatologici per la diagnosi (tab. I), la cui certezza è legata esclusivamente all'individuazione dei marcatori specifici della cellula di Langerhans: i granuli di Birbeck o l'antigene di membrana CD1 (T6).

La diagnosi differenziale va posta nei confronti dei linfomi e delle leucosi: le caratteristiche cito- ed istologiche di queste forme sono in genere sufficienti a indirizzare verso una corretta diagnosi. Rappresentano ulteriori elementi di diagnostica differenziale nei confronti della granulomatosi di Langerhans le frequenti complicanze neuromeningee, le alterazioni della crasi ematica e l'assenza di manifestazioni cutanee.

**Prognosi**

L'evoluzione e la prognosi risultano difficilmente prevedibili anche a causa del polimorfismo clinico della malattia dimostratosi ben più complesso di quanto si ritenesse in passato. Inoltre la malattia non può venire compressa in un qualsivoglia schematismo nosografico, esistendo infatti la possibilità di forme di passaggio tra i differenti aspetti clinico-prognostici. Frequente è anche l'evoluzione di una forma nell'altra ovvero la generalizzazione di forme ad esordio unifocale o la regressione di forme ad esordio multisistemico. Tuttavia vengono comunemente ritenuti indici di evolutività di malattia che fanno ipotizzare una prognosi non favorevole: la giovane età dei pazienti, le localizzazioni viscerali e la compromissione midollare con le relative manifestazioni citopeniche.

**TAB. I. CRITERI DIAGNOSTICI PER L'ISTIOCITOSI A CELLULE DI LANGERHANS**
(descritta da The Writing Group of the Histiocyte Society, 1987)

*Diagnosi presunta*: studio del materiale bioptico con colorazioni convenzionali

*Diagnosi consistente*: oltre al punto precedente debbono essere presenti almeno 2 tra i seguenti caratteri:
positività della colorazione per ATP-asi
positività della colorazione per proteina S-100
positività della colorazione per α-mannosidasi

*Diagnosi di certezza*: dimostrazione dei granuli di Birbeck in microscopia elettronica o del marcatore di membrana CD1 (T6) su sezioni criostatiche

I risultati di un *trial* terapeutico effettuato presso il Children's Cancer Research Foundation di Boston su 127 pazienti hanno consentito di stabilire che i casi diagnosticati prima dei 2 anni di età presentavano una prognosi significativamente peggiore.

Nel caso della *granulomatosi unifocale*, una volta emendata la lesione chirurgicamente o mediante radioterapia, la malattia va tenuta sotto controllo per almeno tre anni ad intervalli di circa 6 mesi. La mancata comparsa di nuove lesioni a distanza di 12 mesi dalla diagnosi, rende la prognosi molto più favorevole.

Per quanto attiene alla *granulomatosi plurifocale*, il giudizio prognostico risulta difficilmente precisabile in quanto la forma clinica può esordire con le localizzazioni più svariate ed evolvere in modo poco prevedibile nel corso dei mesi o degli anni.

**Terapia**

Nel corso degli ultimi anni sono stati proposti numerosi protocolli terapeutici per il trattamento dell'i. X, anche se non è stata raggiunta una vera e propria codifica dei differenti schemi utilizzati dalle varie scuole.

La *granulomatosi unifocale* può guarire completamente sia con l'utilizzazione della pratica chirurgica sia con la radioterapia locale (300-800 rad). Si ricorre a quest'ultima quando la lesione è ubicata in una zona difficilmente accessibile dal punto di vista chirurgico (ad es. una vertebra cervicale); essa sembra inoltre possedere una certa utilità nel controllo del dolore.

La *granulomatosi plurifocale* si avvale di numerosi preparati chemioterapici che nel corso degli ultimi anni sono stati utilizzati con alterne fortune dai diversi ricercatori: metotrexate, 6-mercaptopurina, vinblastina, vincristina. Sono giunte segnalazioni favorevoli circa l'associazione prednisone-metotrexate. Comunque, nelle forme croniche la terapia deve essere ridotta al minimo. I corticosteroidi consentono di ottenere una discreta risposta nelle forme polmonari e nel controllo delle recidive, mentre il diabete insipido si avvale della terapia sostitutiva con l'ormone postipofisario, ovvero del trattamento con clorpropamide con cui è possibile dominare la sindrome poliurico-polidipsica.

**Bibliografia**

Aqel N. M., Jones D. B., Wright D. H., *J. Pathol.*, 1987, **151**, 41.
Beckstead J. H., Wood G. S., Turner R. R., *Hum. Pathol.*, 1984, **15**, 826.
Broadbent V., Pritchard J., Davies E. G., *Lancet*, 1984, **i**, 253.
Goldberg N. S. M. *et al.*, *Arch. Dermatol.*, 1986, **122**, 446.
Hall P. A., O'Doherty C. J., Levison D. A., *Histopathol.*, 1987, **11**, 1181.
Hand A. jr., *Arch. Pediatr.*, 1983, **10**, 673.
Komp D. M. *et al.*, *Cancer*, 1981, **47**, 798.
Letterer E., Frankf Z., *Pathol.*, 1924, **30**, 377.
Lichtenstein L., *Arch. Pathol.*, 1953, **56**, 84.
Murphy G. F. *et al.*, *Lab. Invest.*, 1981, **45**, 465.
Nezelof C., *Rev. Fr. Et. Clin. Biol.*, 1966, **11**, 22.
Nezelof C., Basset F., Rousseau M. F., *Biomedicine*, 1973, **18**, 365.
Norton A. J., Sargent C. B., Isaacson P. G., *J. Pathol.*, 1987, **151**, 51.
Perreault C., Pelletier M., Landry D., Gyger M., *Blood*, 1984, **63**, 807.
Ringden O. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1987, **316**, 733.
Rowden G., Connelly E. M., Winkelmann R. K., *Arch. Dermatol.*, 1983, **119**, 553.
Ruco L. P., *Am. J. Clin. Pathol.*, 1989, **92**, 273.
Siwe S., *Adv. Pediatr.*, 1949, **4**, 117.
The Writing Group of the Histiocyte Society, *Lancet*, 1987, **i**, 208.
Watanabe S. *et al.*, *Cancer*, 1983, **51**, 1412.
Wolfe K., Stingl G., *J. Invest. Dermatol.*, 1983, **80**, 17.
Wolfson S. L., Botero F., Hurwitz S., Pearson H. A., *Cancer*, 1981, **48**, 2336.

ANTONELLA AFELTRA E ANTONIO AMOROSO





Digitized by Google

## ISTOCOMPATIBILITÀ [v. vol. VIII, col. 749]

SOMMARIO



### Genetica e sierologia del sistema HLA

I geni del sistema HLA (v.; v.*), il sistema maggiore dell'istocompatibilità dell'uomo, sono situati su di un complesso cromosomico localizzato sul braccio corto del 6° paio di autosomi. Si conoscono oggi diverse famiglie di geni *HLA* che si raggruppano in *regioni* distinte del complesso. Si distinguono: la regione *ABC* dove trovano sistemazione i geni di classe I, la regione *D/DR* dove sono localizzati i geni di II classe e, infine, la regione di classe III che comprende i geni che codificano per alcune frazioni complementari, due geni della 21-idrossilasi e i geni alfa e beta del *Tumor Necrosis Factor* (TNF), di recente identificazione (Spies *et al.*, 1986).

Il complesso HLA è localizzato fra 6p 21.1 e 6p 21.3, comprende 3500 kilobasi (risulta, quindi, un 75% più ampio del corrispondente *MHC* del topo) e sembra contenere al più 50 geni. Ha, perciò, la stessa grandezza dell'intero genoma dell'*Escherichia coli*, che contiene, al contrario, un numero altissimo di geni (da 5000 a 10.000). Perchè i geni *HLA* e, in generale quelli delle cellule eucariotiche, siano codificati in una quantità tanto grande di DNA non è ancora noto: si pensa che una parte sia necessaria agli organismi superiori per codificare meccanismi di regolazione dell'espressione.

Il sistema HLA occupa 3,5 *centiMorgans* (cM) del genoma umano (assumendo che 1000 kilobasi siano pari a 1 cM), così distribuiti: 1 cM per la classe I; 1,5 (2) cM per la classe II e 1 cM per la classe III. La distanza fisica fra i geni, ricostruita mediante tecnologie biomolecolari, è in accordo con quella stimata in base alle frequenze di ricombinazione.

I prodotti dei geni *HLA* sono stati caratterizzati, inizialmente con metodiche sierologiche e cellulari e, più recentemente, con tecniche biochimiche e di clonazione del DNA. Tali prodotti, conosciuti più comunemente come antigeni HLA, presentano la caratteristica di un grande polimorfismo, il più esteso noto nell'uomo, il che ha creato qualche problema per quanto riguarda la nomenclatura, molto complessa e assai ostica, soprattutto per i neofiti.

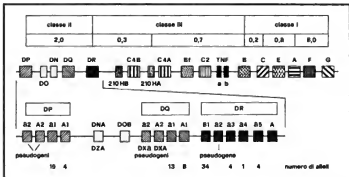
Un Comitato dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (World Health Organization, WHO) decide i criteri in base ai quali denominare *loci*, geni e antigeni HLA.

I tre *loci* per i geni di classe I sono chiamati *A*, *B*, *C*; vi sono, inoltre, altri *loci* per geni di classe I che codificano per strutture ancora poco note (geni *E*, *F* e *G*). La regione *D*, propria dei geni di classe II, comprende tre sottoregioni principali (*DR*, *DQ* e *DP*) e altre due sottoregioni, ultimamente individuate, denominate *DO* e *DN* (*DZ*), i cui prodotti sono ancora sconosciuti e che potrebbero anche non codificare per alcun antigene (pseudogeni).

La fig. 1 mostra una rappresentazione, estremamente schematica, del complesso cromosomico *HLA*, così come definito dall'ultimo Workshop Internazionale di Istocompatibilità (New York, 1987) e da successive, recentissime acquisizioni.

La tab. I elenca, invece, gli antigeni noti delle due principali regioni cromosomiche *HLA*, cioè quelle relative ai geni (antigeni) di classe I e di classe II, secondo la pubblicazione del Comitato WHO per la Nomenclatura HLA (1988).

Appare evidente l'enorme polimorfismo, praticamente illimitato, nella popolazione in generale. Se, infatti, consideriamo tutte le possibili combinazioni fra i geni di I e II classe (senza, fra l'altro, contemplare i geni di III classe), il numero dei genotipi teorici ascende a parecchi miliardi. È ovvio che moltissime combinazioni non si sono mai riscontrate (nè, probabilmente, si riscontreranno mai, dovendo riunire tutti geni estremamente rari), ma anche prendendo in considerazione soltanto gli assortimenti più frequenti (quelli che raggruppano geni usuali), il riscontrare due soggetti HLA-identici fra la popolazione generale è evenienza rarissima. Questa constatazione ha un riscontro importante nei trapianti, in particolare nei trapianti di midollo osseo. Al contrario, questo enorme polimorfismo è, per ragioni genetiche, ristretto in ambito familiare. Infatti, i geni sistemati sul cromosoma HLA sono strettamente collegati fra loro così che, salvo *crossing-over* (che è evenienza, tutto sommato, assai rara, intervenendo, come rivelato dalla lunghezza di mappa, in circa il 3,5% dei casi), essi vengono trasmessi in blocco dai genitori alla prole attraverso le generazioni. Il cromosoma parentale prende il nome di *aplotipo* (fortunatissimo termine coniato da Ceppellini nel 1967, che poi è stato usato ad indicare ogni patrimonio aploide): se chiamiamo *a* e *b* i due aplotipi paterni e *c* e *d* quelli materni le possibili combinazioni (sempre, ovviamente, salvo *crossing-over*) sono soltanto quattro: *ac*, *ad*, *bc* e *bd*.

Fig. 1. Mappa genetica della regione HLA situata sul braccio corto del cromosoma 6. Viene ingrandita la regione di classe II (regione D/DR). Si può notare che alcuni geni (*DRB2*; *DQA2* e *DQB2*; *DPA2* e *DPB2*) sono pseudogeni. I prodotti dei geni *E*, *F* e *G* di classe I e dei geni *DN* e *DO* di classe II non sono noti.

**TAB. I. LISTA COMPLETA DELLE SPECIFICITÀ HLA RICONOSCIUTE AL X WORKSHOP INTERNAZIONALE DI ISTOCOMPATIBILITÀ**
(WHO, Nomenclature Committee, 1988)

**Classe I**
A1, A2, A3, A9, A10, A11, Aw19, A23(9), A24(9), A25(10), A26(10), A28, A29(w19), A30(w19), A31(w19), A32(w19), Aw33(w19), Aw34(10), Aw36, Aw43, Aw66(10), Aw68(28), Aw69(28), Aw74(w19)

B5, B7, B8, B12, B13, B14, B15, B16, B17, B18, B21, Bw22, B27, B35, B37, B38(16), B39(16), B40, Bw41, Bw42, B44(12), B45(12), Bw46, Bw47, Bw48, B49(21), Bw50(21), B51(5), Bw52(5), Bw53, Bw54(w22), Bw55(w22), Bw56(w22), Bw57(17), Bw58(17), Bw59, Bw60(40), Bw61(40), Bw62(15), Bw63(15), Bw64(14), Bw65(14), Bw67, Bw70, Bw71(w70), Bw72(w70), Bw73, Bw75(15), Bw76(15), Bw77(15)

Bw4
Bw6

Cw1, Cw2, Cw3, Cw4, Cw5, Cw6, Cw7, Cw8, Cw9(w3), Cw10(w3), Cw11

**Classe II**
Dw1, Dw2, Dw3, Dw4, Dw5, Dw6, Dw7, Dw8, Dw9, Dw10, Dw11(w7), Dw12, Dw13, Dw14, Dw15, Dw16, Dw17(w7), Dw18(w6), Dw19(w6), Dw20, Dw21, Dw22, Dw23, Dw24, Dw25, Dw26

DR1, DR2, DR3, DR4, DR5, DRw6, DR7, DRw8, DR9, DRw10, DRw11(5), DRw12, DRw13(w6), DRw14(w6), DRw15(2), DRw16(2), DRw17(3), DRw18(3)

DRw52
DRw53

DQw1, DQw2, DQw3, DQw4, DQw5(w1), DQw6(w1), DQw7(w3), DQw8(w3), DQw9(w3)

DPw1, DPw2, DPw3, DPw4, DPw5, DPw6

Fra parentesi le specificità supertipiche.

Al massimo, ogni quinto figlio di una coppia deve essere, obbligatoriamente, eguale ad uno dei fratelli che lo ha preceduto. La fig. 2 illustra la segregazione familiare delle caratteristiche HLA; in essa viene anche riportato un ipotetico caso di *crossing-over*, riguardante il *locus DR*, con la conseguente positività al test della coltura linfocitaria mista (MLC) fra fratelli identici per gli antigeni HLA di classe I ma differenti per gli antigeni DR (classe II).

Stabilito che il corredo parentale aploide è costituito dall'aplotipo, il genotipo individuale consta, obbligatoriamente, di due aplotipi (uno di origine paterna e uno di origine materna) e può essere determinato esclusivamente da indagini familiari. Il numero degli antigeni HLA (A, B, C, DR, DQ, DP) presenti in un soggetto può essere inferiore a 12, in relazione ad uno stato di omozigosi a uno o più alleli, quando entrambi i genitori hanno trasmesso lo stesso gene, oppure alla presenza di determinanti antigenici per i quali non disponiamo ancora dei reagenti specifici. In tali casi, si dice che il soggetto è *blank* (vuoto) al relativo *locus*: in realtà possiederà o un gene amorfo o un gene di cui ignoriamo ancora il prodotto (o sarà, come detto, omozigote a quel *locus*).

Qualche cenno merita la nomenclatura: come si può constatare dalla tab. I, alcuni antigeni hanno un prefisso «w» inserito fra il simbolo del *locus* e il numero: ciò sta ad indicare una specificità non ancora perfettamente caratterizzata (ma, comunque, ben individuata in numerosi laboratori di riferimento), mentre gli antigeni senza «w» sono ormai compiutamente definiti in tutti i laboratori di riferimento. Alcuni antigeni presentano delle suddivisioni, in quanto si sono dimostrati non omogenei. Ad es. A9, per non citare che il primo in ordine, comprende due determinanti A23 e A24 (che nell'elenco sono seguiti, infatti, da A9 fra parentesi). Queste suddivisioni sono chiamate, in gergo, *splits*. Gli antigeni che si suddividono in *splits* sono anche chiamati «lunghi» o «pubblici», mentre per le suddivisioni si parla di antigeni «corti» o «privati». Si parla soprattutto di antigeni pubblici (detti anche supertipici) e privati (subtipici) a proposito di un fenomeno caratteristico della sierologia HLA: quello della reattività crociata o *cross-reattività*. Studiando sieri anti-HLA provenienti da poligravide o da donatori immunizzati volontariamente, si può notare come spesso compaiano anticorpi diretti verso antigeni assenti nell'immunizzatore specifico, così come, talora, è possibile ridurre fortemente (sino ad esaurimento totale) l'attività di un antisiero utilizzando cellule prive del corrispondente antigene. Ciò accade perché quasi tutti gli antigeni HLA possono essere riuniti in famiglie crossreagenti.

La crossreattività è un fenomeno squisitamente sierologico e trova il suo razionale essenzialmente in due fatti: *a*) gli antigeni HLA sono stati, storicamente, definiti attraverso reazioni che utilizzano immunoglobuline prodotte per immunizzazione (gravidanze o trasfusioni mirate in volontari); *b*) le differenze molecolari fra un antigene HLA e un altro (siano essi di I o di II classe) risiedono in sostituzioni puntiformi nelle sequenze aminoacidiche che inframezzano lunghe strutture conservate, in modo che le simi-

Fig. 2. Albero genealogico di un'ipotetica famiglia dove vengono riportati gli aplotipi e documentata la trasmissione ereditaria delle caratteristiche HLA-A, B, C, DR. I fratelli 2 e 3 sono HLA-A, B, C, DR-identici e non si stimolano reciprocamente in MLC (test della coltura linfocitaria mista). Si dimostra anche una ricombinazione avvenuta per meiosi materna fra i *loci* B e DR, che ha prodotto il nuovo aplotipo A1, B8, C–, DR1 comparso nel figlio 4. Di conseguenza, l'MLC è positivo bidirezionalmente fra i fratelli 3 e 4 che pure sono identici per i *loci* di classe I. (*Da Bodmer et al., 1978, modificata*).





Digitized by Google

**TAB. II. LISTA DELLE SPECIFICITÀ HLA-B RITENUTE INCLUSE, RISPETTIVAMENTE, IN Bw4 E Bw6**
(WHO, Nomenclature Committee, 1988)

| | |
|---|---|
| Bw4: | B5, B13, B17, B37, B38(16), B44(12), Bw47, B49(21), B51(5), Bw52(5), Bw53, Bw57(17), Bw58(17), Bw59, Bw63(15), Bw77(15) |
| Bw6: | B7, B8, B14, B18, Bw22, B35, B39(16), B40, Bw41, Bw42, B45(12), Bw46, Bw48, Bw50(21), Bw54(w22), Bw55(w22), Bw56(w22), Bw60(40), Bw61(40), Bw62(15), Bw64(14), Bw65(14), Bw67, Bw70, Bw71(70), Bw72(70), Bw73, Bw75(15), Bw76(15) |

**TAB. III. LISTA DELLE SPECIFICITÀ HLA-DR RITENUTE INCLUSE, RISPETTIVAMENTE, IN DRw52 E DRw53**
(WHO, Nomenclature Committee, 1988)

| | |
|---|---|
| DRw52: | DR3, DR5, DRw6, DRw8, DRw11(5), DRw12, DRw13(w6), DRw14(w6), DRw17(3), DRw18(3) |
| DRw53: | DR4, DR7, DR9 |

litudini fra gli antigeni (specie della stessa classe) sono, in effetti, molte. I punti di sostituzione rappresentano la caratteristica estranea, quella che viene definita con il termine *epitopo*. L'epitopo, quindi, rappresenta la parte funzionalmente attiva dell'antigene. L'intera molecola di un antigene HLA (sulle cui caratteristiche strutturali riferiremo più avanti) può contenere numerosi epitopi diversi, ognuno dei quali è capace di indurre una risposta immune distinta. Alcuni di questi epitopi, peraltro, sono sicuramente comuni a più specificità antigeniche: si tratta dei cosiddetti «epitopi pubblici», così che l'alloimmunizzazione produce anticorpi in grado di reagire con più di una struttura antigenica HLA. L'esempio più tipico di epitopi HLA «pubblici» è fornito dagli antigeni Bw4 e Bw6. Descritti primitivamente da van Rood nel 1962 come antigeni codificati da un sistema biallelico (*4a* e *4b*), essi sono presenti, alternativamente (o l'uno o l'altro), su tutti gli antigeni codificati dal *locus B*. La tab. II sintetizza la sistemazione degli antigeni HLA-B secondo la loro inclusione in Bw4 o Bw6. Fra gli antigeni di classe II, quelli DR presentano esempi analoghi di epitopi «pubblici»: DRw52 e DRw53, anche essi presenti, alternativamente, sulla maggior parte degli antigeni DR come elencato in tab. III.

Accanto a questi antigeni «pubblici» esistono, poi, epitopi che potremmo designare come «sublipici» o, meglio, «crossreattivi», nel senso che sono comuni ad un certo numero di antigeni della stessa serie allelica. Come precedentemente riferito, è possibile riunire la maggior parte degli antigeni HLA-A, HLA-B e HLA-DR in «famiglie» crossreagenti. Le figg. 3, 4 e 5 riportano i principali gruppi crossreagenti, riguardanti, rispettivamente, gli antigeni codificati dal *locus A*, dal *locus B* e dal *locus DR*. Nelle figure, le linee tratteggiate indicano una crossreattività debole, le linee normali una crossreattività tipica e quelle in grassetto una crossreattività molto stretta.

A conclusione di questo capitolo sulla genetica sembra utile inserire un breve accenno al cosiddetto *linkage disequilibrium*, cioè al fatto che certe associazioni gametiche fra alleli *HLA* si ritrovano più frequentemente di quanto ci si dovrebbe aspettare in base alle rispettive frequenze geniche. In caso di associazione equilibrata, la presenza concomitante di due alleli sullo stesso aplotipo deve essere pari al prodotto delle singole frequenze. Ad es., nella popolazione caucasica le frequenze geniche di *A1* e *B8* sono rispettivamente 0,17 e 0,11: la loro contemporanea presenza sullo stesso aplotipo dovrebbe essere di 0,17 × 0,11 e cioè di 0,0187, mentre essa varia da 0,128 sino a 0,400. Il *linkage disequilibrium* si misura con il valore Δ ($\Delta = h - p1 \cdot p2$, dove $h$ è la frequenza aplotipica constatata e $p1 \cdot p2$ è il prodotto delle frequenze geniche). Le combinazioni alleliche che mostrano i più alti valori Δ sono: *A1-B8-Cw7-DR3*; *A3-B7-Cw7-DR2*; *A2-B44-Cw5-DRw11* e *A3-B35-Cw4-DRw11*. Le ragioni di queste associazioni preferenziali non sono ancora compiutamente delucidate. La più accreditata ipotesi al riguardo è che tali combinazioni presentino un vantaggio selettivo, confermando che il complesso HLA è un *supergene* nel senso di «blocco epistatico di informazione genetica», come è stato definito da Ceppellini *et al.* (1967).

### Struttura e funzione degli antigeni HLA

Gli *antigeni di classe I* sono presenti su tutte le cellule nucleate dell'organismo (e sulle piastrine), ma la loro espres-

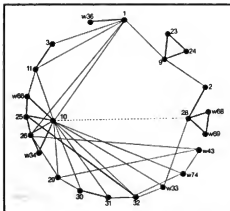



Fig. 3. Crossreazioni fra antigeni HLA-A. (*Da Mayr, 1988, ridisegnata*).

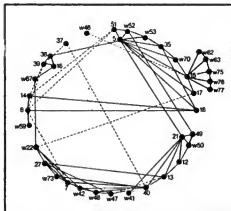



Fig. 4. Crossreazioni fra antigeni HLA-B. (*Da Mayr, 1988, ridisegnata*).





Digitized by Google

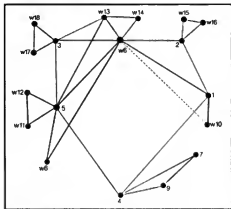



Fig. 5. Crossreazioni fra antigeni HLA-DR. (*Da Mayr, 1988, ridisegnata*).

sione varia sensibilmente nei diversi tessuti e nelle differenti categorie di cellule. Infatti, la maggior parte delle cellule somatiche e, in particolare, le cellule muscolari, del sistema nervoso e i fibroblasti presentano una espressione assai ridotta, mentre le cellule del sistema immunitario, quali i linfociti T, quelli B e i macrofagi hanno una espressività molto elevata. In queste ultime cellule gli antigeni HLA rappresentano l'1% circa di tutte le proteine di membrana.

Le molecole di classe I sono glicoproteine di membrana, altamente polimorfiche, costituite da una catena pesante (p.m. 44.000 d) saldamente ancorata alla membrana cellulare e da una catena leggera, non covalentemente associata, di 12.000 d, che si è dimostrata essere la beta-2-microglobulina, un polipeptide non polimorfico, non glicosilato, codificato da un *locus* localizzato sul cromosoma 15.

Strutturalmente si possono distinguere quattro regioni extracellulari, universalmente designate come *domains*, tre codificate dalla catena pesante e denominate alfa-1 ($\alpha_1$), alfa-2 ($\alpha_2$) e alfa-3 ($\alpha_3$) e una codificata dalla beta-2-microglobulina ($\beta_2$m). La catena pesante (alfa) contiene anche una sequenza di aminoacidi idrofobici, dislocati nello spessore della membrana cellulare, e un'altra sequenza di aminoacidi idrofilici che ancora la molecola alla membrana plasmatica e si trova all'interno della cellula. La porzione extracellulare è composta da 281 aminoacidi, quella idrofobica intramembrana da 24 (282-306) e quella idrofilica intracitoplasmatica da 31 aminoacidi (307-338). Il numero totale dei residui aminoacidici è, quindi, di 338 aminoacidi. Le differenze puntiformi aminoacidiche che determinano l'ampio polimorfismo delle molecole HLA di classe I sono sistemate in alfa-1 (residui 1-90) e in alfa-2 (residui 91-182). Al contrario, i due *domains* prossimi alla membrana e, cioè, alfa-3 (residui 183-281) e la beta-2-microglobulina non dimostrano alcun polimorfismo. Le differenze nelle sequenze aminoacidiche non sono distribuite casualmente, ma ricorrono in punti precisi, che vengono identificati come «regioni ipervariabili». Sono state identificate 7 regioni ipervariabili, corrispondenti ai seguenti residui aminoacidici: 9-12, 40-45, 62-83, 94-97, 105-116, 137-163 e 174-194. Queste sono le regioni che contengono i siti destinati a legare i peptidi estranei (antigeni estranei).

Nel 1987, Bjorkman *et al.* presentarono una ipotesi di struttura tridimensionale delle molecole di classe I, basata sull'analisi cristallografica di queste molecole. Questa struttura è riportata in fig. 6.

In essa si dimostrano i reciproci rapporti fra i *domains* e la configurazione tipo alfa-elica delle due prime regioni (alfa-1 e alfa-2). Tale conformazione rappresenta la base strutturale per la presentazione dell'antigene estraneo da parte delle molecole HLA al recettore delle cellule T.

La particolare configurazione del sito presentante l'antigene è descritta meglio nella fig. 7. Come si può notare, le alfa eliche servono come pareti di una tasca che si estende sulla superficie esterna della molecola HLA. Le eliche alfa-1 e alfa-2 comprendono, grossolanamente, i residui aminoacidici 50-84 e 138-178, rispettivamente. I rimanenti residui aminoacidici di queste prime due alfa eliche si ripiegano in strisce parallele (tipo beta strutture) e vanno a formare il fondo (pavimento) della tasca. Alcune delle regioni ipervariabili descritte in precedenza sono sistemate nelle pareti della tasca mentre altre si trovano sul fondo. Quindi, differenti siti polimorfici possono servire, in rapporto alla loro collocazione fisica, a differenti funzioni nella presentazione dell'antigene estraneo. Durante il procedimento di presentazione del peptide estraneo da parte della molecola HLA avvengono numerose interazioni. In particolare, il pavimento della tasca interreagisce soprattutto con il peptide, mentre le pareti reagirebbero più direttamente con i recettori antigenici delle cellule T. La tasca ha queste misure: circa 25 Å in lunghezza, 10 in larghezza e 11 in profondità. Essa è, quindi, adatta ad accogliere peptidi della lunghezza da 8 a 20 aminoacidi, in dipendenza di quante volte la sequenza è ripiegata su se stessa. A conclusione, si può affermare che la maggior funzione delle mo-

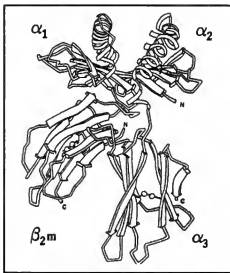



Fig. 6. Rappresentazione schematica della struttura a nastro delle molecole di classe I, raffigurante le relazioni fra i *domains* e la configurazione ad α-elica dei *domains* $\alpha_1$ e $\alpha_2$. (*Da Bjorkman et al., 1987, ridisegnata*).





Digitized by Google

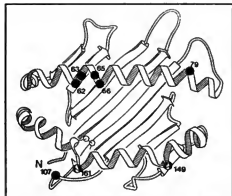



Fig. 7. Rappresentazione schematica della «tasca per il peptide estraneo (antigene)» delle molecole di classe I. Le β-strutture sono mostrate come grosse frecce mentre le α-eliche sono rappresentate come nastri elicoidali. I numeri indicano gli epitopi per le specificità HLA. (*Da Bjorkman et al., 1987, modificata*).

lecole HLA di classe I è la presentazione di un antigene estraneo (già processato) alle pertinenti cellule T. Il recettore proprio delle cellule T interagisce contemporaneamente con il peptide estraneo e con la molecola HLA della cellula presentante l'antigene, *non con il solo peptide*. Si tratta della cosiddetta *MHC-restriction* nei procedimenti di riconoscimento dell'antigene che danno il via alla risposta immunitaria.

Gli *antigeni di classe II* hanno distribuzione ristretta, nel senso che sono presenti su certe linee cellulari ma non su altre: linfociti B periferici, macrofagi, cellule dell'epitelio timico, alcuni progenitori delle cellule mieloidi, cellule di Langherans della cute e cellule dendritiche della milza. Essi possono anche essere presenti in altre cellule nucleate quali i linfociti T, i dermofibroblasti e le cellule endoteliali, purchè siano stati attivati mediante stimolazione con mitogeni o con gamma-interferon. Sono composti anche essi da due catene polipeptidiche glicosilate, una più lunga o catena alfa, di 33-34.000 d, associata, non covalentemente, ad una catena più corta, beta, di 28-29.000 d. Entrambe le catene presentano una porzione intracitoplasmatica invariabile (nota come *invariant chain*). Si sono perfettamente caratterizzate tre famiglie di antigeni di classe II; HLA-DR, DQ, DP. Anche se costituite da catene polipeptidiche di differente lunghezza, gli antigeni di classe II hanno una struttura molto simile a quella degli antigeni di classe I. Infatti, anche essi hanno quattro regioni extracellulari, denominate alfa-1, alfa-2, beta-1 e beta-2, codificate dai geni alfa e, rispettivamente, beta. Lo studio comparativo delle sequenze aminoacidiche della classe II rispetto a quelle della classe I ha fatto ipotizzare che i primi due *domains* $NH_2$ terminali (alfa-1 e beta-1) si combinino fra loro a formare una struttura a tasca simile (se non identica) al sito per il peptide immunogenico presente sulla molecola di classe I. La struttura lineare delle molecole HLA di classe II, formata da una catena pesante (alfa) e da una catena leggera (beta), fissate non covalentemente alla superficie delle cellule, così come l'ipotetica conformazione del sito presentante l'antigene sono schematizzate in fig. 8.

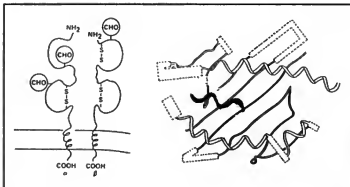
Strutturalmente, gli antigeni di classe II (così come, almeno in buona parte, quelli di classe I) assomigliano alle immunoglobuline, nel senso che hanno un caratteristico ponte disolfuro vicino alla membrana cellulare, un *domain* transmembrana di aminoacidi idrofobici e una corta estremità intracitoplasmatica di residui idrofilici. La catena alfa è composta di 229 aminoacidi di cui 191 extracellulari (residui 1-90 per alfa-1 e 91-191 per alfa-2), 23 con radicali idrofobici compresi nello spessore della membrana e i rimanenti 15, idrofilici, immersi nel citoplasma. La catena beta è costituita da 237 aminoacidi così distribuiti: 199 extracellulari, 22 intramembrana e 16 citoplasmatici. Il polimorfismo è confinato alla sola catena beta.

Gli antigeni di classe II sono essenzialmente coinvolti nella cooperazione fra le varie popolazioni di cellule immunocompetenti per la regolazione della risposta immune. Senza scendere in dettaglio, ricordiamo che le molecole di classe II sono dei recettori alla superficie cellulare in grado di legare frammenti peptidici estranei (e *self*) e di presentare tali frammenti immunogenetici ai linfociti T (sottopopolazione CD4, cioè *helper*). Alto è il numero degli antigeni che le molecole di classe II sono in grado di legare e, quindi, si tratta di recettori in certo senso non-specifici. Essi, peraltro, non possono legare tutti i peptidi e la struttura di un determinato allele di classe II può avere un mag-

Fig. 8. Rappresentazione schematica delle molecole di classe II. *A sinistra*, le due catene, α e β, legate non covalentemente alla superficie cellulare. *A destra*, la ipotetica struttura tridimensionale della «tasca per il peptide antigenico» (qui mostrato come una linea nera), tratta per estrapolazione dall'analoga struttura delle molecole di classe I. (*Da Brown et al., 1988, ridisegnata*).





Digitized by Google

giore o minore effetto sulla capacità di vincolare particolari peptidi antigenici, il che si riflette, in definitiva, sulla capacità di dare una risposta immune ad un determinato stimolo. Ciò spiega come le caratteristiche genotipiche di II classe siano importanti ai fini della suscettibilità (o, al contrario, della resistenza) a determinate malattie.

I geni sistemati nella *regione di III classe* codificano per frazioni del complemento e, più specificamente, un gene per la seconda frazione (C2) e due geni (*A* e *B*) per la frazione C4 (il primo gene, *C4A*, per la frazione rapida e il secondo, *C4B*, per quella lenta della via classica di attivazione complementare). Nella stessa regione, inoltre, trova sistemazione il gene per il fattore B della properdina (*Bf*), propria della via alternativa. Non è sicuramente senza significato che questi fattori, tutti (e tanto) importanti per il controllo della frazione C3, punto nodale per l'attivazione sia della via classica che della via alternativa, siano sistemati in un complesso cromosomico già così ampiamente coinvolto nel controllo della risposta immune.

Sempre nella regione di classe III trovano sistemazione i geni che codificano per due enzimi (*21-OHA* e *21-OHB*) della 21-idrossilasi, la cui carenza condiziona la comparsa dell'iperplasia congenita delle surrenali, dovuta ad un difetto nella sintesi dell'aldosterone e del cortisolo.

La recente mappatura dei due geni (*alfa* e *beta*) del *Tumor Necrosis Factor* (TNFalfa e TNFbeta, due citochine secrete dai macrofagi e dai linfociti attivati da mitogeni in risposta ad una varietà di stimoli invasivi), all'interno della regione di classe III, suggerita dalle ricerche di Spies *et al.* (1986), ha fornito utili indicazioni sull'ordine spaziale dei *loci* propri di questa regione, ordine che è quello indicato in fig. 1 e che contempla il *locus C2* telomerico (cioè più vicino alla regione di classe I) e il *locus C4B* centromerico (cioè più vicino alla regione di classe II).

Le principali nozioni qui riportate sulla genetica dell'HLA sono state, in parte, sintetizzate dall'approfondita revisione sull'argomento di Guillemot *et al.* (1988).

**Metodiche di tipizzazione tessutale**

Negli anni più recenti sono state utilizzate nuove metodiche per la tipizzazione HLA. Buoni risultati si sono ottenuti con metodiche fisico-chimiche, quali l'*isoelectrofocusing* e l'elettroforesi bidimensionale. Ma i risultati più stimolanti si sono avuti con l'uso delle biotecnologie che hanno permesso di passare dallo studio dei prodotti dei geni (cioè dallo studio degli antigeni) a quello diretto dei geni. Queste ultime indagini sullo studio delle catene di DNA sono: il *Southern blot* (v. BLOTTINO*) e la *Polymerase Chain Reaction* (v. PCR*).

L'*isoelectrofocusing* è una tecnica che separa le molecole HLA in base alla loro carica elettrica. Inizialmente, le molecole sono radiomarcate, poi precipitate mediante un siero monoclonale *locus*-specifico e, infine, fatte migrare in un gel a gradiente basato sul pH, dove tali molecole si separano in base al loro punto isoelettrico. Anche la sostituzione di un solo aminoacido, qualora vi sia una differenza di gradiente, può determinare una differente migrazione. Questa metodica è particolarmente adatta allo studio delle molecole HLA di classe I.

L'*elettroforesi bidimensionale* è una metodica più sensibile della precedente, soprattutto per le molecole di classe II. La prima fase della metodica consiste in una precipitazione delle pertinenti molecole (come detto, preferibilmente di classe II) mediante un anticorpo monoclonale *locus*-specifico, seguita da una separazione elettroforetica in gel di poliacrilamide e da un'ulteriore separazione in rapporto sia al punto isoelettrico che al pH. Le catene alfa e beta migrano in differenti punti del gel e possono essere distinte con grande facilità.

Il *Southern blot*, che viene utilizzato per la tecnica di tipizzazione detta RFLP (*Restriction Fragment Lenght Polimorphism*; v. anche HLA*), si esegue attraverso le seguenti tappe: il DNA, solitamente estratto dai leucociti del sangue periferico, viene tagliato in numerosi frammenti ad opera di enzimi di restrizione (endonucleasi) ognuno dei quali è in grado di «tagliare» il DNA in punti ben definiti (ad es. fra i nucleotidi T e CGA). In genere il frazionamento avviene là dove vi è una sequenza di sei basi palindromiche. I filamenti di DNA così ottenuti vengono separati mediante elettroforesi in gel di agaroso. I frammenti più lunghi migrano meno e restano vicini al catodo, mentre quelli più corti migrano più rapidamente e si avvicinano all'anodo. Tali filamenti vengono, poi, denaturati con alcali e passati su filtri di cellulosa dove vengono assorbiti (fenomeno del *blotting*, per primo descritto da Southern, 1975). A questo punto viene aggiunta al filtro una «sonda» (*probe*) consistente in una copia radioattiva di un gene *HLA* o di una sua porzione: la sonda va ad ibridarsi con i frammenti di DNA del gene in esame e ne permette l'identificazione e l'analisi. Va ricordato che le copie di DNA si ottengono dall'RNA messaggero, mediante trascriptasi inversa; l'autoradiografia dà la posizione dei singoli frammenti. Per questo tipo d'indagine sono critici l'enzima di restrizione e le sonde utilizzate (v. CLONE E CLONAZIONE*; SONDE MOLECOLARI*).

Il metodo della *Polymerase Chain Reaction* consiste nel preparare sonde di pochi nucleotidi (19 nucleotidi), per questo chiamate oligonucleotidiche, ognuna delle quali è corrispondente ad una regione del DNA specifica per un dato allele. Anche in questa tecnica si tratta di ibridizzare la sonda con un tratto di DNA in esame. Per ottenere reazioni più chiare è necessario disporre di quantità elevate di DNA pertinente. Ciò si ottiene mediante un processo enzimatico di riproduzione ripetuta del tratto di DNA voluto, che permette di ottenere centinaia di migliaia di copie del DNA (Saiki *et al.*, 1988). V. PCR*.

Lo studio dei polimorfismi HLA mediante biotecnologie consente un'analisi particolarmente approfondita e raffinata. Queste tecnologie, assai utili in medicina legale e per ricerche immunogenetiche, non possono, peraltro, sostituire in pieno, al momento attuale, la tipizzazione sierologica che resta la più utilizzata nel mondo e ciò, essenzialmente, per tre ragioni: *a*) non sono ancora disponibili sonde in grado di identificare i prodotti di tutti gli alleli HLA sierologicamente noti; *b*) la tecnica d'indagine è costosa e richiede laboratori specificamente attrezzati; *c*) i test sul DNA sono indaginosi e, soprattutto, richiedono tempi lunghi, non compatibili, perciò, con necessità di urgenza, quali la tipizzazione di donatori di cadaveri per i trapianti d'organo.

**Bibliografia**


Bjorkman P. J., Saper M. A. *et al.*, *Nature*, 1987, **329**, 506.
Bodmer W. F. *et al.*, *Proc. R. Soc. London*, 1978, **202**, 93.
Brown J. H., Jardetzky T. *et al.*, *Nature*, 1988, **332**, 845.
Ceppellini R., Curtoni E. S. *et al.*, *Genetics of Leukocyte Antigens. A Family Study of Segregation and Linkage*, in Curtoni E. S., Mattiuz P. L., Tosi R. M. eds., *Histocompatibility Testing 1967*, 1967, Munksgaard, Copenhagen, p. 149.
Guillemot F., Auffray C. *et al.*, *MHC Antigen Genes*, in Hames D. B., Glover D. M. eds., *Molecular Immunology*, 1988, IRL Press, Oxford, p. 81.
Mayr W., *HLA Kreuzreaktionen*, 1988, Biotest AG, Dreieich.
Saiki R. K., Gelfand D. H. *et al.*, *Science*, 1988, **239**, 487.
Southern E. M., *J. Mol. Biol.*, 1975, **98**, 503.
Spies T. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986, **83**, 8699.
WHO, *Nomenclature Committee 1988*, *Vox Sang.*, 1988, **55**, 119.


GIORGIO REALI





Digitized by Google

**ISTOPLASMOSI** [v. vol. VIII, col. 798]

Non sono emerse a tutt'oggi particolari novità per quanto riguarda l'etiologia, la patogenesi e l'epidemiologia della istoplasmosi, mentre sono stati descritti quadri clinici particolari in pazienti affetti da immunodeficienza acquisita (AIDS) e sono stati tentati nuovi trattamenti con farmaci meno tossici dell'amfotericina B. Pertanto l'aggiornamento è stato limitato ai capitoli relativi alle manifestazioni cliniche e alla terapia.

**Manifestazioni cliniche**

L'*i. primaria* nella grande maggioranza dei casi risulta asintomatica o causa una sintomatologia aspecifica di tipo similinfluenzale caratterizzata da tosse, febbre, cefalea, mialgie, crampi allo stomaco e dolore pleurico. Se l'esposizione alle spore fungine è stata particolarmente pesante si possono manifestare dispnea, cianosi, dolore toracico e pericardite. Più raramente si osservano eritema nodoso, eritema multiforme, *rash* diffuso o artralgie. La radiografia del torace dimostra infiltrati focali multipli con linfoadenopatia ilare e mediastinica, più raramente si rilevano caverne o versamento pleurico; le lesioni polmonari evolvono in calcificazioni «a pallini di cartucce da caccia» e i linfonodi calcifici danno origine a profili arrotondati e molteplici. La *reinfezione* provoca, dopo una incubazione inferiore ai 7 giorni, lesioni polmonari a tipo nodulazione miliare senza linfoadenopatia ilare; solitamente l'affezione polmonare è lieve e di breve durata ma, talvolta, si verificano forme di maggiore gravità.

L'*i. polmonare cronica* colpisce per lo più pazienti già affetti da broncopneumopatia cronica ostruttiva ed enfisema centrolobulare o bolloso. Si manifesta con una polmonite interstiziale acuta segmentale, contigua a una bolla di enfisema, con tosse, febbre e malessere. Nella maggioranza dei pazienti il quadro clinico evolve in pochi mesi in necrosi similinfartuale e fibrosi residua; in alcuni casi l'affezione polmonare si caratterizza per la formazione di lesioni cavitarie che, aumentando di volume, invadono e danneggiano il parenchima circostante.

L'i. *disseminata* si classifica in acuta, subacuta e cronica. La forma acuta colpisce bambini o adulti affetti da AIDS ed è caratterizzata da febbre, epatosplenomegalia, linfoadenopatia, pancitopenia, e, meno frequentemente, polmonite interstiziale e ulcere intestinali e orofaringee. Le forme subacuta e cronica si manifestano solitamente in adulti non immunocompromessi e sono caratterizzate, oltre che dal coinvolgimento dei tessuti reticoloendoteliali, da manifestazioni focali tipo insufficienza surrenalica, meningite, endocardite.

È stata descritta una sindrome oculare, definita come *sindrome oculare presumibilmente correlata con l'i.* (*presumed ocular histoplasmosis syndrome*: POHS), caratterizzata dalla presenza di una triade di manifestazioni oculari: neoformazione di membrane vascolari retiniche in corrispondenza della macula, atrofia peripapillare e lesioni giallastre della coroide. Questa sindrome è stata descritta in alcuni soggetti che presentano un test cutaneo positivo per l'istoplasmina. Tuttavia, a differenza di altre sindromi oculari segnalate in corso di i. diffusa e del granuloma corioretinico isolato, in cui l'occhio è specificamente coinvolto e in cui *Histoplasma capsulatum* è stato rilevato a livello delle lesioni oculari, nella POHS non è stato mai possibile documentare la presenza del micete a livello dell'occhio; pertanto la sua correlazione con l'i. è ancora molto discussa e comunque rimane controindicato qualsiasi trattamento specifico, mentre si è dimostrata utile la laserterapia.

**Terapia**

L'infezione polmonare primaria e la gran parte dei casi di i. polmonare cronica non richiedono l'adozione di una terapia antifungina. L'i. disseminata, specie nei pazienti con AIDS, richiede terapia con amfotericina B, da somministrare per via e. v. per 10 settimane sino alla dose totale di 2 g negli adulti, e 1 mg/kg/*die* per 6 settimane nei bambini. Il ketoconazolo (v.*) si è dimostrato utile nell'i. polmonare cronica cavitaria (200-400 mg/*die* per 6 mesi), per il completamento della terapia nella forma disseminata o la prevenzione delle recidive nei pazienti con AIDS.

**Bibliografia**

Loyd J. E. *et al.*, *Histoplasma capsulatum*, in Mandell G. L., Douglas R. G., Bennett J. E., *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 1990, 3 ed., Churchill-Livingstone, New York.
Sarosi G. A., Davis S. F., *Histoplasma capsulatum Pneumonia*, in Pennington J. E., *Respiratory Infections: Diagnosis and Management*, 1988, 2 ed., Raven Press, New York.

FRANCESCO MENICHETTI

**ITAI-ITAI**: v. CADMIO*.

**ITRACONAZOLO**

F. *itraconazole*. - I. *itraconazole*. - T. *Itraconazole*. - S. *itraconazol*.

**Struttura, meccanismo e spettro d'azione**

Antifungino utilizzabile *per os* nelle micosi cutanee e sistemiche, appartiene, con il fluconazolo, al gruppo dei triazoli (v. ANTIMICOTICI*).

L'itraconazolo esplica attività antimicotica legandosi al citocromo P-450 dei funghi con conseguente inibizione della sintesi dell'ergosterolo e alterazione della permeabilità della membrana cellulare fungina. L'i. non sembra interferire con il citocromo P-450 delle cellule umane, possedendo un'affinità per l'enzima della cellula fungina molto superiore a quella del ketoconazolo (v.*). L'attività antifungina è diretta contro i dermatofiti (*Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton*) e gran parte dei funghi responsabili di micosi sottocutanee e sistemiche. È attivo nei confronti delle candide, soprattutto *Candida albicans* (con l'eccezione di *Torulopsis glabrata*), *Cryptococcus neoformans*, *Trichosporon beigelii* e funghi dimorfi (*Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum*, *Sporothrix schenckii*). I funghi responsabili della cromomicosi (*Cladosporium* sp., *Fonsecaea pedrosoi* e *Phialophora verrucosa*) risultano particolarmente sensibili. Tra gli imidazolici l'i. è l'unico che possieda una rilevante attività nei confronti di *Aspergillus fumigatus* e *A. flavus*. Gli zigomiceti (*Rhizopus* sp., *Mucor* sp.), gran parte dei *Fusarium* sp. risultano invece resistenti.

**Biodisponibilità e farmacocinetica**

Dopo somministrazione orale il farmaco viene bene assorbito se assunto con i pasti e raggiunge il picco plasmatico a distanza di 2-4 h. Allo *steady-state*, raggiunto dopo 14 giorni, i livelli plasmatici di picco aumentano in modo non lineare con l'incremento delle dosi (da 100 mg/*die* in dose singola a 400 mg/*die* in 2 somministrazioni); solitamente nei pazienti neutropenici si raggiungono livelli plasmatici meno elevati. L'efficacia del farmaco sembra in relazione al raggiungimento di livelli terapeutici allo *steady-state* (> 0,25 mg/l). L'emivita plasmatica varia da 20 h dopo singola somministrazione a 30 h dopo 2-4 settimane di trattamento. Seppure altamente legato alle proteine plasmatiche (> 95%), possiede una buona diffusibilità tessutale e raggiunge concentrazioni più elevate di quelle sieriche nel-





Digitized by Google

la cute, nell'apparato genitale femminile, nel polmone, fegato, milza, rene, tessuto osseo e negli essudati purulenti; purtuttavia diffonde poco nel liquor, nella saliva, nell'escreato e nell'occhio. L'i. è largamente metabolizzato a livello epatico in composti inattivi che vengono eliminati con la bile e le urine. Il farmaco non risulta dializzabile.

**Indicazioni cliniche**

*Micosi superficiali.* – L'esperienza clinica con l'i. è ancora limitata, purtuttavia il farmaco ha dimostrato efficacia nelle seguenti affezioni: dermatofitosi (*tinea capitis*, *corporis*, *cruris*, *pedis*, etc.); candidosi vulvovaginale, orale, cutanea; *pityriasis versicolor*.

*Micosi sottocutanee.* – Risultati incoraggianti sono stati ottenuti in alcune affezioni non comuni, come sporotricosi e cromomicosi.

*Micosi sistemiche.* – L'esperienza accumulata nelle micosi sistemiche è ancora più limitata; va comunque segnalato che l'i. si è dimostrato efficace e utile in alcuni casi di: candidosi cronica mucocutanea, paracoccidioidomicosi, blastomicosi nordamericana (malattia di Gilchrist), istoplasmosi e coccidioidomicosi; candidosi sistemica (esofagite, candiduria) da *Candida albicans* (le micosi da *Candida* [*Torulopsis*] *glabrata* risultano meno responsive); aspergillosi (cheratite; forma invasiva); criptococcosi meningea (terapia d'attacco e di soppressione cronica).

L'i. è stato inoltre utilizzato per la profilassi delle infezioni fungine nei pazienti con AIDS o neutropenici.

Le controindicazioni sono rappresentate da una storia di ipersensibilità al farmaco e dalla gravidanza.

**Modalità di somministrazione e dosi usuali**

L'i. (Sporanox®) viene somministrato per via orale alle seguenti dosi:

a) nella terapia delle micosi sistemiche: adulti: 200-400 mg/*die*, (bambini: 3-5 mg/kg/*die*) per periodi di durata variabile in relazione all'affezione da trattare.

b) nella terapia delle micosi superficiali (esclusa la candidosi vaginale): 100 mg/*die* ai pasti per una durata variabile (mughetto, *tinea corporis* e *cruris*: per 15 giorni; *tinea pedis*: per 30 giorni: *tinea capitis*: 4-8 settimane; onicomicosi: 3-6 mesi); *pityriasis versicolor*: 200 mg/*die* per 5-7 giorni; candidosi vaginale acuta e cronica: 200 mg/*die* per 3 giorni (oppure 200 mg, 2 volte al dì per 1 giorno); cheratite fungina: 200 mg/*die* per 3 settimane.

c) profilassi nei neutropenici: 200 mg, 2 volte al dì.

**Effetti indesiderati**

L'i. risulta generalmente ben tollerato. Gli effetti indesiderati di più frequente riscontro sono a carico dell'apparato gastrointestinale: dispepsia, dolori addominali, nausea, vomito, diarrea, aumento delle transaminasi (ma l'epatite acuta è molto rara, con incidenza intorno all'1/10.000). Sono stati inoltre segnalati vertigini, prurito, cefalea e, a dosi elevate, rari casi di ipokaliemia con ipertensione.

**Interazioni d'importanza clinica**

Le concentrazioni sieriche di i. vengono diminuite dalla concomitante somministrazione di rifampicina e di antiepilettici (fenobarbital, idantoina). È stato inoltre segnalato l'accumulo di ciclosporina in pazienti sottoposti a trapianti d'organo e trattati contemporaneamente con i.

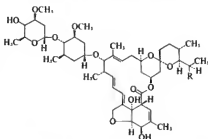
**Bibliografia**

Cauwenbergh G. *et al.*, *Rev. of Infect. Diseases*, 1987, **9** (Suppl. 1), 146-152.
Grant S. M., Clissold S. P., *Drugs*, 1989, **37**, 310-344.

FRANCESCO MENICHETTI

## IVERMECTINA

F. *ivermectine.* - I. *ivermectin.* - T. *Ivermectin.* - S. *ivermectina.*

L'ivermectina è un derivato semisintetico delle avermectine, un gruppo di antibiotici antielmintici a largo spettro, isolati da *Streptomyces avermitilis* (v. ANTIELMINTICI*). L'i. (Mectizan®, non in vendita in Italia) è un macrociclico lattone (macrolide) che contiene l'80% di 22,23-diidroavermectina $B_{1a}$ e il 20% di 22,23-diidroavermectina $B_{1b}$.

componente $B_{1a}$ $R = C_2H_5$ componente $B_{1b}$ $R = CH_3$

L'i. è un farmaco di prima scelta nel trattamento della oncocercosi (v.*), in quanto distrugge le microfilarie della cute e dell'occhio; non è attivo nelle forme adulte di *Onchocerca volvulus*, ma ne inibisce la deposizione delle uova.

Il meccanismo d'azione non è del tutto conosciuto; sembra che l'i. agisca bloccando la trasmissione neurosinaptica mediata dall'ac. γ-aminobutirrico (GABA): si ha la paralisi e quindi la morte del nematode.

L'azione dell'i. è meno rapida, ma più prolungata di quella della dietilcarbamazina (il farmaco antielmintico finora più largamente impiegato nell'oncocercosi): si ha quindi una risposta infiammatoria meno severa e ciò è vantaggioso per la terapia della localizzazione delle microfilarie nella cornea e nella camera anteriore dell'occhio.

L'i. si concentra nel fegato e nel tessuto adiposo: la sua eliminazione avviene per via fecale mentre solo una piccola quantità viene eliminata con le urine. Non supera la barriera ematoencefalica.

Non sembra avere azione teratogena o fetotossica.

Gli effetti collaterali sono limitati: linfonodi ingrossati al collo, alle ascelle e all'inguine; *rashes* cutanei (per la morte di microfilarie nella cute); vertigini, cefalea, febbre.

L'azione è molto prolungata, fino a 12 mesi. La dose singola deve essere assunta a stomaco vuoto: è di 150 μg/kg di peso corporeo e può essere ripetuta ogni 6-12 mesi. Il dosaggio per i bambini da 5 anni in su è identico ma può essere ripetuto solo dopo 12 mesi.

Ottesen *et al.* (1990) hanno dimostrato la grande efficacia della i. in singola dose orale anche nel trattamento della filariasi determinata da *Wuchereria bancrofti* (v. FILARIASI*).

**Bibliografia**

Campbell W. C. *et al.*, *Science*, 1983, **221**, 823.
Fisher M. H., Mrozik H., *The Avermectin Family of Macrolide Antibiotics*, in Omura S. ed., *Macrolide Antibiotics*, 1984, Academic Press, New York.
Greene B. M. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1985, **313**, 133.
Kumaraswami V. *et al.*, *JAMA*, 1988, **259**, 3150.
Ottesen E. A. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1990, **322**, 1113.
Weller P. F., Liu L. X., *N. Engl. J. Med.*, 1990, **322**, 1153.
Whitworth J. A. G. *et al.*, *Lancet*, 1988, **II**, 97.

LUCIANO VELLA





Digitized by Google

# J-K

**JAKOB-CREUTZFELDT, MALATTIA DI** [v. vol. VIII, col. 876]

In alcuni casi di malattia di Jakob-Creutzfeldt, ma più frequentemente in altre due infezioni da «virus lento» (*kuru* e *scrapie*; v. KURU, VIII, 914; v. anche: LENTIVIRUS*), si osserva al microscopio ottico una alterazione patologica particolare, vale a dire la presenza di amiloide in forma di placche simili alle placche senili della malattia di Alzheimer (v. ALZHEIMER, MALATTIA DI*; DEMENZE*). Questi depositi di sostanza amiloide sono stati recentemente l'oggetto di studi di notevole interesse etiopatogenetico. Va notato che al microscopio elettronico, la presenza di fibrille amiloidi è un reperto pressoché costante nelle infezioni da «virus lento». Queste fibrille vennero osservate per la prima volta nello *scrapie* per cui furono chiamate SAF (*scrapie associated fibrils*). La sostanza formante le SAF è stata identificata: si tratta di una glicoproteina del p. m. di 25.000 (7000 dopo rimozione della parte glicidica), simile ma non identica alla glicoproteina formante la sostanza amiloide nella malattia di Alzheimer. Secondo alcuni le SAF sono in effetti l'agente etiologico «non-convenzionale», una ipotesi convalidata dal fatto che sono strettamente associate al titolo infettivo. Secondo altri si tratterebbe più semplicemente di un fenomeno di co-purificazione e la deposizione di amiloide sarebbe secondaria a una infezione da «virus lento» non ancora identificato.

Un'altra novità degna di nota in questo aggiornamento è l'osservazione di casi di m. di J.-C. a seguito di terapia con ormone della crescita ottenuto da ipofisi di origine umana. A questo proposito va notata non solo l'estrema resistenza dei «virus lenti» a vari agenti fisici e chimici, ma anche l'elevato numero di ipofisi umane utilizzate in una preparazione di ormone della crescita (da 500 a 20.000), un fatto che rende difficile l'esclusione di materiale infetto, e così pure la presenza del «virus lento» nelle regioni ipotalamiche adiacenti e nell'ipofisi posteriore (la presenza del virus nell'ipofisi anteriore non è stata ancora dimostrata).

V. anche: LENTIVIRUS*.

**Bibliografia**


Bignami A., Bolis L., Gajdusek D. C., *Molecular Mechanisms of Pathogenesis of Central Nervous System Disorders*, 1986, FESN, Geneva.

Brown P., Gajdusek D. C., Gibbs C. J., Asher D. M., *N. Engl. J. Med.*, 1985, **313**, 728.


AMICO BIGNAMI

**KALLMAN-DE MORSIER, SINDROME DI**

È una sindrome a carattere ereditario le cui principali manifestazioni sono costituite da anosmia e ipogonadismo ipogonadotropo (legato al deficit dei fattori ipotalamici di rilascio delle gonadotropine [GnRH; gonadorelina]).

L'incidenza è stata stimata intorno a 1 : 10.000 per i maschi e a 1 : 50.000 per le femmine. In differenti studi la trasmissione genetica è risultata autosomica oppure legata al cromosoma X; è quindi possibile che esista una notevole eterogeneità genetica, a cui conseguono la variabile entità del deficit di GnRH e il polimorfismo clinico-laboratoristico della sindrome. Possono associarsi svariate anomalie, tra cui le più frequenti sono: labiopalatoschisi e altre malformazioni scheletriche, criptorchidismo, sordità, ginecomastia.

Anosmia o iposmia congenita è presente nell'80% dei soggetti con ipogonadismo e può riscontrarsi come difetto isolato nei familiari sani. È importante indagare il deficit sia con una attenta anamnesi che con l'uso di test che valutino la soglia olfattiva, poiché i pazienti tendono a non riferirlo spontaneamente. Talvolta all'autopsia si è riscontrato un ridotto sviluppo del rinencefalo e mediante l'uso della risonanza magnetica nucleare sono stati evidenziati solchi olfattori assenti o rudimentali. L'ipogonadismo, più manifesto nei maschi, esordisce con ritardo puberale. La diagnosi precoce quindi è difficile, perché talvolta anche in adolescenti normali la piena maturità sessuale è raggiunta a 18-20 anni. Tuttavia l'associazione di pubertà ritardata, ipo-anosmia e storia familiare di ipogonadismo è suggestiva per la sindrome di Kallman. I pazienti di solito hanno alta statura, con arti troppo lunghi rispetto al tronco; tale aspetto eunucoide viene acquisito a una età corrispondente alla tarda pubertà (più precocemente invece nella sindrome di Klinefelter). Nel 40% dei casi è presente obesità. Non c'è crescita della barba e i peli pubici e ascellari sono scarsi e radi. La maturazione scheletrica è ritardata; la massa ossea





Digitized by Google

è ridotta, con conseguente maggior rischio di fratture. Già dall'età infantile il pene è di dimensioni ridotte e inferiori al quinto percentile rispetto all'età. I testicoli sono piccoli (diametro maggiore < 2,5 cm) e immaturi. I tubuli seminiferi sono costituiti da cellule di Sertoli e da spermatogoni con scarsi o assenti segni di maturazione; le cellule di Leydig sono molto rade e mal differenziate, mentre prevalgono i loro precursori mesenchimali. Se non viene istituito alcun trattamento il quadro istologico rimane tale indefinitamente. Le femmine hanno aspetto infantile, scarso sviluppo dei caratteri sessuali secondari e configurazione fisica di tipo eunucoide. In tutti i follicoli ovarici la maturazione non procede oltre lo stadio di follicolo primordiale.

Le concentrazioni sieriche degli steroidi sessuali sono ridotte. A causa del deficit di GnRH, le pulsazioni secretorie dell'LH (che normalmentre compaiono alla pubertà) sono assenti, o di ampiezza ridotta, o infine presenti solo durante la notte; pertanto i livelli circolanti di gonadotropine sono bassi. Sono invece normali le concentrazioni basali degli altri ormoni ipofisari; una parte dei pazienti presenta risposte ridotte nei relativi test dinamici di stimolo. Se il deficit gonadotropinico è limitato al solo LH, un bassissimo numero di spermatozoi può essere presente nell'eiaculato («sindrome dell'eunuco fertile»); questi pazienti spesso hanno ginecomastia e in realtà non sono fecondi. Tuttora non è certa l'esistenza di un deficit isolato di FSH.

Per il trattamento la gonadotropina corionica, dotata di prevalente attività LH-simile (2000-4000 U.I., tre volte a settimana) si associa alle gonadotropine menopausali, che hanno discreta attività di tipo FSH (150 U.I., tre volte a settimana). Se la terapia è iniziata precocemente di solito induce la virilizzazione, la differenziazione delle cellule di Leydig e la fertilità dell'eiaculato (o l'ovulazione); il trattamento spesso è inefficace in caso di criptorchidismo bilaterale.

La terapia di mantenimento con testosterone conserva il grado di virilizzazione raggiunto, ma non la fertilità, che si può però ripristinare riprendendo la somministrazione di gonadotropine. Un trattamento alternativo di più recente introduzione utilizza piccole dosi di GnRH ripetute nell'arco della giornata, che imitano la fisiologica pulsatilità del GnRH endogeno.

V. anche: IPOTALAMO (VIII, 481-482); IPERGONADISMO E IPOGONADISMO, *ipogonadismo* (VIII, 47; fig. 6).

**Bibliografia**

Bardin C. W., Paulsen C. A., *The testes: Hypogonadotropic Syndromes*, in Williams R. H. ed., *Textbook of Endocrinology*, 1981, Saunders, Philadelphia, p. 328.
Landau R. L., *Hypogonadism: Hypogonadotropic Hypogonadism*, in de Groot L. J. ed., *Endocrinology*, 2 ed., 1989, vol. 3, Saunders, Philadelphia, p. 2173.
Lieblich J. M., Rogol A. D., White B. H., Rosen S. W., *Am. J. Med.*, 1982, **73**, 506.
Spratt D. I., Carr D. B., Merrian G. R. *et al.*, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1987, **64**, 283.

VINCENZO CARNEVALE

## KAPOSI, MORBO DI [v. vol. VIII, col. 883]

SOMMARIO



### Definizione

Il morbo di Kaposi, detto dagli AA. di lingua inglese sarcoma di Kaposi, è un'affezione proliferativa multicentrica, di probabile origine endoteliale, che abitualmente si manifesta al suo esordio con chiazze, placche e noduli cutanei di colorito eritematoso o violaceo costituiti da vasi neoformati e da un infiltrato di elementi cellulari fusati.

### Cenni storici

La malattia, descritta nel 1872 da Moritz Kaposi sotto la dizione di *sarcoma idiopatico multiplo pigmentoso*, fu ritenuta per quasi un secolo come una patologia peculiare delle popolazioni di razza mediterranea dell'Europa meridionale (*Kaposi classico* o *europeo*).

Solo all'inizio degli anni sessanta fu possibile accertare che, in realtà, la malattia era presente da lungo tempo anche nell'Africa tropicale, dove in molti casi assumeva caratteristiche cliniche ed evolutive del tutto particolari (*Kaposi endemico* o *africano*).

Più recentemente, infine, è stata evidenziata la stretta correlazione esistente fra il m. di K. e condizioni di immunodeficienza, sia conseguenti a trattamenti immunosoppressivi sia secondarie ad infezione da HIV (*Human Immunodeficiency Virus*; v. SINDROME DA IMMUNODEFICIENZA ACQUISITA; SINDROME DA IMMUNODEFICIENZA ACQUISITA*) (*Kaposi degli immunodepressi, Kaposi epidemico*).

### Epidemiologia

L'incidenza del m. di K. fino all'inizio degli anni settanta variava grandemente da paese a paese, basti pensare che nell'Africa tropicale esso costituiva dal 3 al 9% di tutti i tumori maligni, in U.S.A. solo lo 0,02%. La malattia, inoltre, risultava colpire prevalentemente il sesso maschile, con un rapporto maschio : femmina di circa 8 : 1, e si osservava in Europa più spesso in soggetti anziani, mentre nel continente africano si manifestava con numerosi casi nei bambini e con un'incidenza progressivamente crescente a partire dal terzo decennio di vita.

L'utilizzazione in terapia negli ultimi 20 anni di potenti immunosoppressori e la diffusione epidemica, dopo il 1980, dell'infezione da HIV, hanno peraltro modificato profondamente l'epidemiologia del m. di K. Oggi la malattia è segnalata in tutto il mondo, colpisce anche negli U.S.A. e in Europa un numero elevato di giovani adulti e, se gli omosessuali sieropositivi di sesso maschile costituiscono ancora il gruppo di pazienti più numeroso, è sempre più frequente il coinvolgimento del sesso femminile.

### Etiopatogenesi

L'etiopatogenesi del m. di K. è attualmente sconosciuta, ma diversi motivi fanno ritenere che fattori genetici, deficit dell'immunità cellulomediata e agenti virali abbiano un ruolo fondamentale nell'innescare il processo di proliferazione vascolare.

Anche se il m. di K. non è familiare, l'esistenza di una predisposizione genetica sembrerebbe dimostrata dalla maggior frequenza con cui si riscontrano determinati aplotipi HLA nei soggetti colpiti rispetto alla popolazione generale. L'importanza di un deficit dell'immunità cellulare non è provata solo dalla recente diffusione della malattia fra gli individui con infezione da HIV, ma anche dalla sua possibile regressione, nei pazienti immunodepressi per altre cause, quando si abbia un ripristino delle normali condizioni immunitarie.

Il ruolo di agenti virali infine è da tempo ipotizzato e l'attenzione si è soprattutto inizialmente focalizzata sul citomegalovirus, che infetta gran parte della popolazione omosessuale. È peraltro quasi certo che il citomegalovirus non è implicato nella genesi della malattia mentre potrebbero esserlo, in base a considerazioni epidemiologiche, altri agenti virali trasmissibili per via sessuale e in grado di favorire anche l'insorgenza di linfomi. È infatti noto che i pazienti con m. di K. hanno un rischio di sviluppare patologie linfoproliferative due volte maggiore della popolazione generale di pari età. A proposito dell'identità di que-



Digitized by Google

sto ipotetico virus, è interessante ricordare che l'emangiomatosi dei polli, malattia clinicamente e istologicamente simile a quella umana, è dovuta a un retrovirus linfotropo in grado anche di favorire l'insorgenza di linfomi.

Circa la patogenesi è ormai quasi certo che la proliferazione vascolare pluricentrica è sostenuta dalla sintesi di fattori angioproliferativi, che sono verosimilmente prodotti in una fase iniziale dai linfociti T e successivamente secreti dalle stesse cellule proliferanti.

In base alle considerazioni sopra riportate è possibile avanzare l'ipotesi che il m. di K. si sviluppi per una cascata di eventi: alterazione del DNA T-linfocitario probabilmente per azione di un virus linfotropo, attivazione di un oncogène endogeno, produzione da parte di questo oncogène di fattori che innescano la proliferazione vascolare, mantenimento di questa proliferazione con meccanismo autocrino, mancato controllo immunologico per deficit immunitari acquisiti e per predisposizione genetica del soggetto colpito.

**Clinica**

La malattia si manifesta a livello cutaneo con chiazze di colorito rosso-brunastro o bruno-violacee a limiti netti e con placche e noduli rosso-violacei (figg. 1 e 2). Lesioni analoghe si osservano a carico delle mucose visibili.

Nel *m. di K. classico* o europeo le lesioni sono acroposte, interessando prevalentemente gli arti inferiori e meno spesso anche gli arti superiori, con una certa simmetria. Agli arti inferiori è abituale un edema duro che non conserva l'impronta del dito e le chiazze sono spesso desquamanti e talora nerastre per l'abbondanza di pigmento emosiderinico. Rare sono, all'esordio, localizzazioni al tronco, al volto e alle mucose visibili.

Nel *m. di K. endemico* degli anziani la presentazione clinica è analoga. Nei bambini africani invece la malattia si manifesta con la tumefazione dei linfonodi di tutte le stazioni superficiali, in assenza di sintomi cutaneomucosi, e nei giovani adulti africani con manifestazioni acroposte spesso localmente aggressive per interessamento dei tessuti profondi fino ai piani ossei.

Il *m. di K. degli immunodepressi*, infine, è eruttivo e caratterizzato da lesioni cutanee di tipo maculoso e nodulare che fin dall'esordio interessano sedi inabituali, quali il volto, il collo e la parte alta del tronco (fig. 3). Le mucose visibili sono spesso colpite (fig. 4) e sono frequenti le localizzazioni linfoghiandolari e a carico degli organi interni, in particolare a livello del tubo digerente e dei polmoni.

Fig. 2. M. di K. classico o europeo. Lesioni multiple di tipo nodulare al dorso della mano sinistra.

Fig. 3. M. di K. epidemico. Lesione in chiazza del lobulo nasale.

Fig. 1. M. di K. classico o europeo. Lesioni in placca all'arto inferiore sinistro.

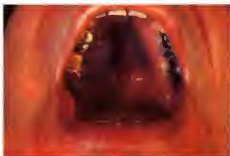



Fig. 4. M. di K. epidemico. Chiazze violacee al palato.





Digitized by Google

In tutte le varietà di m. di K. non sono peraltro rare presentazioni cliniche atipiche come ad es. manifestazioni nodulari isolate localizzate sulla pianta di un piede o al glande.

**Diagnosi**

La diagnosi, in presenza di molteplici lesioni ben sviluppate con le caratteristiche sopra descritte, è abitualmente agevole; difficile è invece in presenza di manifestazioni isolate e, in genere, nella fase iniziale della malattia.

Il m. di K. va principalmente differenziato da altre proliferazioni vascolari, come il granuloma piogenico, l'angiosarcoma e in particolare lo pseudo-Kaposi. Quest'ultima entità interessa abitualmente gli arti inferiori ed è l'espressione cutanea di fistole artero-venose profonde (*sindrome di Bluefarb-Stewart*) o di una grave insufficienza venosa (*sindrome di Mali*).

Ogniqualvolta esistano dubbi diagnostici sarà eseguito l'esame istologico. La diagnosi istopatologica di m. di K. si basa su diversi elementi: riscontro nel derma medio e profondo di spazi vascolari di forma e calibro bizzarri, privi di sangue, e bordati da cellule endoteliali rigonfie e aggettanti nei lumi (fig. 5); riscontro di elementi cellulari fusati con nuclei allungati ad estremità arrotondate riuniti in fasci variamente orientati; presenza fra gli elementi fusati di sottili fessure ripiene di emazie (fig. 6); presenza di un'infiltrazione più o meno abbondante di linfociti e plasmacellule; depositi di pigmento emosiderinico liberi o inglobati in macrofagi.

Effettuata la diagnosi è necessario accertare l'eventuale

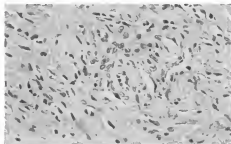



Fig. 5. M. di K. epidemico. Aspetti istologici linfangiomatosi.

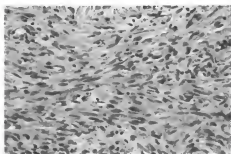



Fig. 6. M. di K. europeo. Aspetti istologici di proliferazione fusata.

**TAB. 1. STADIAZIONE DEL KAPOSI EPIDEMICO**

| Stadio | Caratteristiche |
|---|---|
| I | Cutaneo con meno di 5 lesioni o 1 sede e/o linfonodale. |
| II | Cutaneo con più di 5 lesioni e più sedi e/o mucoso, e/o gastrointestinale minimo. |
| III | Cutaneomucoso, e/o linfonodale e viscerale, o solo viscerale. |

A: infezioni opportunistiche assenti e linfociti CD4+ > 200/mm³.
B: infezioni opportunistiche assenti e linfociti CD4+ < 200/mm³.
C: infezioni opportunistiche presenti.

interessamento degli organi interni. Oltre all'esame delle mucose visibili sarà a tale scopo utile eseguire un'ecografia o una T.A.C. addominale, un'esofagogastroduodenoscopia, una rettosigmoidoscopia (e in presenza di lesioni del retto o del sigma, una coloscopia), una radiografia del torace e, nel riscontro di lesioni sospette, una broncoscopia ed eventualmente anche una biopsia polmonare.

Stabilita l'estensione della malattia, il singolo caso sarà poi classificato utilizzando la stadiazione di Krigel, quella di Mitsuyasu o, per il Kaposi epidemico, quella da noi recentemente proposta (tab. I).

**Decorso**

Il m. di K. europeo, salvo rari casi, ha decorso lentamente ingravescente con tardivo interessamento degli organi interni. Più rapida è l'evoluzione del m. di K. africano localmente aggressivo e particolarmente rapida è quella del m. di K. africano linfoghiandolare e del m. di K. epidemico e degli immunodepressi. In quest'ultima varietà è peraltro possibile, come si è già detto, un arresto dell'evoluzione della malattia o la sua parziale regressione con il miglioramento delle condizioni immunologiche.

Il m. di K. è comunque raramente causa diretta di morte, per interessamento di strutture vitali come il cervello o per gravi emorragie polmonari e gastrointestinali. L'*exitus* è dovuto infatti abitualmente a complicazioni infettive o ad altre cause.

**Terapia**

Le lesioni localizzate vengono trattate con asportazione chirurgica, radioterapia, laserterapia, diatermocoagulazione o infiltrazione locale con antimitotici o interferone α.

Nelle lesioni diffuse vengono utilizzati gli interferoni, gli alcaloidi della vinca e l'etoposide. Particolare attenzione richiede l'uso dei chemioterapici nei soggetti con m. di K. epidemico per i rischi di aggravare l'immunosoppressione e di facilitare la comparsa di infezioni opportunistiche.

**Bibliografia**

Alessi E. *et al.*, *Giorn. Ital. Dermatol. Venereol.*, 1988, **123**, 621.
Dictor M., *Medical Hypotheses*, 1987, **22**, 429.
Dictor M. *et al.*, *J. Am. Acad. Dermatol.*, 1988, **18**, 398.
Friedman-Kien A. E. *et al.*, *Ann. Intern. Med.*, 1982, **96**, 693.
Gange R. W., Wilson Jones E., *Clin. Exp. Dermatol.*, 1978, **3**, 135.
Kaplan L. D. *et al.*, *JAMA*, 1987, **257**, 1367.
Kaposi M., *Arch. Derm. Syph.*, 1872, **4**, 265.
Krigel R. L. *et al.*, *Cancer Treat. Rep.*, 1983, **67**, 53.
Krown S. E. *et al.*, *Cancer*, 1986, **57**, 1662.
Laubenstein L. J. *et al.*, *J. Clin. Oncol.*, 1984, **2**, 1115.
Lothe F., *Acta Pathol. Microbiol. Scand. Suppl.*, 1963, **161**, 5.
Mintzer D. M. *et al.*, *Ann. Intern. Med.*, 1985, **102**, 200.
Mitsuyasu R. T. *et al.*, *Sem. Oncol.*, 1984, **11**, 53.
Penn I., *Transplantation*, 1979, **27**, 8.
Safai B. *et al.*, *Ann. Intern. Med.*, 1985, **103**, 744.
Volderbing P. A. *et al.*, *Ann. Intern. Med.*, 1985, **103**, 334.

ELVIO ALESSI





Digitized by Google

**KARTAGENER, SINDROME DI**: v. BRONCHIETTASIE*.

## KAWASAKI, MALATTIA DI

SOMMARIO



### Definizione

La malattia, o sindrome, di Kawasaki, o sindrome mucolinfocutanea è un'affezione febbrile esantematica acuta (individuata nel 1967; Kawasaki), resistente agli antibiotici, caratterizzata da un grave impegno vascolare sistemico, ma soprattutto coronarico, e da un peculiare quadro flogistico cutaneo e linfonodale.

#### Epidemiologia

La m. di K. pur essendo più frequente in Giappone, ove sono stati segnalati, fra il 1985 e il 1986, 3854 nuovi casi, è stata ormai descritta in ogni continente; anche in Italia sono stati ampiamente superati gli 80 casi (Di Piero *et al.*, 1983; 1988).

La m. di K. si può presentare in forma sia sporadica che epidemica ed è più frequente in inverno, primavera e autunno inoltrato. Il sesso più colpito è quello maschile; l'età preferita è al di sotto dei 5 anni, con picco fra 6 mesi e 2 anni; nessun caso è stato segnalato in età neonatale. La mortalità, già dell'1-2%, è discesa attualmente allo 0,7%.

Sono maggiormente a rischio i bambini di origine asiatica, seguiti da quelli di colore e di razza bianca, soprattutto nell'ambito delle classi sociali medio-elevate.

### Etiologia

Malgrado manchi la dimostrazione di trasmissione per contagio interumano, alcuni dei caratteri clinici ed epidemiologici (eruzione esantematica, insorgenza di focolai epidemici temporalmente e spazialmente delimitati) sono suggestivi di un'etiologia infettiva.

Kato *et al.* avrebbero individuato quale agente etiologico un ceppo variante di *Propionibacterium acnes* trasmesso per via inalatoria all'uomo tramite l'apparato digerente dell'acaro della polvere domestica. Lo streptococco, chiamato in causa in base a ricerche sperimentali, non è stato però dimostrato in coltura, né è stata rilevata la sieroconversione specifica nei pazienti. Altri agenti ipotizzati sono i rotavirus, il virus respiratorio sinciziale, quello di Epstein-Barr e, più recentemente, un retrovirus (Shulman e Rowley, 1986). È stata infatti rilevata, nel sopranatante di colture di cellule mononucleate umane di pazienti affetti, la presenza di transcrittasi inversa, enzima caratteristico dei retrovirus. Poiché nessun aumento del rischio per neoplasia a cellule T o per AIDS, cui alcuni retrovirus sono correlati, è stato rilevato nei pazienti con m. di K., questa potrebbe essere interpretata come un'infezione da retrovirus a espressione transitoria e autolimitante. Allo stato attuale è possibile solo ipotizzare che a causare la malattia concorrano, insieme a uno o più agenti infettivi, alcuni fattori predisponenti, fra i quali, ad es., situazioni genetiche con particolari aplotipi del sistema HLA (Kato *et al.*, 1978; Krensky *et al.*, 1981), senza le quali sarebbe difficile spiegare l'altissima incidenza della malattia fra la popolazione giapponese.

#### Patogenesi

Le manifestazioni patologiche sarebbero correlate a una reazione immunologica di 3° tipo con formazione di immunocomplessi IgG (ICC-IgG) (fig. 1); la fase acuta sarebbe caratterizzata da uno

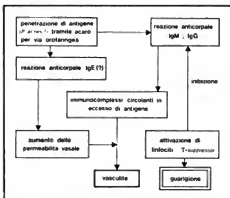



Fig. 1. Ipotesi patogenetica della m. di K.

spiccato aumento del rapporto T4 (*helper-inducer*)/T8 (*suppressor-citotoxic*) e da un incremento dei B-linfociti circolanti, probabilmente indotto da un fattore plasmatico (*B-lymphocitosis factor*) (Furukawa *et al.*, 1986). Sempre in corso di fase acuta, per contro, Matsuoka e Yata avrebbero dimostrato uno stato di attivazione dei linfociti T8 di entità proporzionale ai livelli di ICC. Questi AA. ipotizzano che l'attivazione dei T *suppressor* da parte degli ICC in circolo arresti, con meccanismo di *feedback* negativo, la produzione di ulteriori anticorpi: tale efficiente reazione porterebbe all'autolimitazione della malattia, a differenza di quanto avviene nelle malattie croniche da ICC, quali le connettiviti sistemiche automantenentisi.

Da Leung *et al.* (1982) è stato ipotizzato che con lo stesso meccanismo possa essere riportato alla norma il rapporto di T4/T8 in corso di terapia con immunoglobuline e. v. ad alte dosi (IVGG) sperimentate recentemente con successo (v. sotto). La m. di K., dal punto di vista patogenico sarebbe quindi correlata, dopo la penetrazione dell'agente patogeno per via faringea (confermata dall'adenopatia laterocervicale) con la vivace reazione anticorpale e con la conseguente formazione di ICC-IgG solubili in eccesso di antigene, che, depositandosi nella parete vasale, determinerebbero l'accumulo locale dei leucociti e la successiva liberazione dei loro enzimi lisomali e conseguente danno vascolare; a quest'ultimo potrebbe contribuire la massiccia liberazione di radicali liberi di ossigeno dai granulociti che sono intensamente attivati nei primi giorni di malattia.

#### Anatomia patologica

La vasculite è sistemica ma il *marker* più caratteristico della m. di K. è rappresentato dall'interessamento cardiaco, in cui l'evoluzione dell'arterite coronarica (fig. 2) nei vasi di maggior calibro può portare, in oltre il 20% dei casi, alla formazione di aneurismi nonché alla trombosi e all'infarto. Nella tab. I sono riportati i riscontri anatomici.

### Manifestazioni cliniche

La m. di K. ha un decorso di 6-8 settimane, periodo in cui si distinguono 3 fasi: acuta, subacuta, e di convalescenza.

a) La *fase acuta*, di 2 settimane circa, è caratterizzata da febbre elevata resistente agli antibiotici, seguita, dopo 2-3 giorni, da congiuntivite non secretiva, enantema orofaringeo, lingua a fragola, fissurazione delle labbra, eritema ed edema duro delle mani e dei piedi, esantema prevalentemente di tipo morbilliforme e linfoadenomegalia laterocervicale non costante. Con minore frequenza sono segnalati: meningite asettica, uveite, idrope della cistifellea, interes-





Digitized by Google

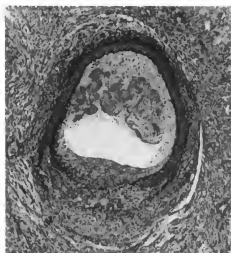



Fig. 2. Arteria coronaria (colorazione per i tessuti elastici, ingrandimento originale 30×) in un bambino di 8 mesi, deceduto dopo 3 settimane di malattia, che mostra fibrosi dell'avventizia, perdita della media muscolare, distruzione delle lamine elastiche e ispessimento dell'intima tipico di uno stadio moderatamente avanzato dell'arterite coronarica. Il lume è parzialmente occluso da un trombo ricanalizzato. (*Per gentile concessione di Landing B. H., Larson E. J., Pediatrics, 1977, 59, 651; Copyright American Academy of Pediatrics*).

samento epatico con ittero, alvo diarroico, leucocituria: tutte complicanze a evoluzione favorevole.

b) La *fase subacuta*, che giunge fino al 25° giorno circa, è frequentemente caratterizzata dai segni dell'impegno cardiaco, che vanno dalla semplice tachicardia alla comparsa

**TAB. I. MODIFICAZIONI ANATOMOPATOLOGICHE A LIVELLO CARDIACO NELLA MALATTIA DI KAWASAKI**
(da Fujiwara e Hamashima, 1978)

**Stadio I** (durata della malattia< 10 giorni)
- Perivasculite acuta delle arterie coronarie
- Angioite microvascolare delle arterie coronarie e dell'aorta
- Pancardite
- Infiammazione del sistema di conduzione atrioventricolare

**Stadio II** (durata della malattia tra 12-18 giorni)
- Panvasculite acuta delle arterie coronarie
- Presenza di aneurismi delle arterie coronarie
- Ostruzione e trombosi delle coronarie
- Miocardite ed endocardite meno intense

**Stadio III** (durata della malattia tra 28-45 giorni)
- Infiammazione subacuta delle arterie coronarie
- Presenza di aneurismi delle arterie coronarie
- Infiammazione miocardica ed endocardica ulteriormente ridotte

**Stadio IV** (durata della malatia > 50 giorni)
- Cicatrizzazione, calcificazione delle lesioni coronariche
- Stenosi e ricanalizzazione del lume delle arterie coronarie
- Fibrosi miocardica senza infiammazione acuta

di soffi e di ritmo di galoppo, sovente già presenti nella prima fase, che possono associarsi ad aritmie gravi da danno coronarico, a insufficienza dei muscoli papillari, a pericardite, a scompenso congestizio e a dolori precordiali che preannunciano l'infarto del miocardio o la formazione di aneurismi. Il carattere sistemico della m. di K. viene inoltre confermato dall'interessamento di altre arterie di medio e grosso calibro, quali le epatiche, le iliache, le ascellari, etc. (fig. 3). Nel 30-40% dei pazienti è riscontrabile un'arterite asettica, nonché, quasi costantemente, una desquamazione a dito di guanto a carico dei polpastrelli e a piccole lamelle in altre zone.

c) La *fase di convalescenza*, che dura fino al 60° giorno, è caratterizzata dal graduale ritorno alla norma degli indici di flogosi; tuttavia, la prognosi resta ancora incerta in relazione all'evoluzione degli aneurismi, che possono regredire totalmente, nella metà dei casi, entro 1 anno, oppure pos-

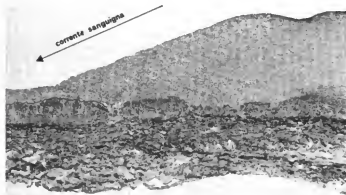



Fig. 3. Preparato istologico di un aneurisma dell'arteria ascellare destra (corrispondente al *riquadro* dello schema in alto). Nella zona non aneurismatica si rileva un lieve ispessimento dell'intima che è però molto ispessita al centro dell'aneurisma; l'elastica interna è distrutta, la media è parzialmente conservata e l'avventizia relativamente ispessita. (*Da Sasaguri Y., Kato H., J. Pediatr., 1982, 100 (2), 225-231; per gentile concessione degli AA., Copyright Mosby, St. Louis*).



Digitized by Google

sono andare incontro a rottura. Nel corso del 2° mese dall'esordio compaiono sovente caratteristiche fissurazioni a tutta larghezza a carico delle unghie delle mani e dei piedi correlate al danno della matrice ungueale.

Non essendo nota l'etiologia dell'affezione, non ci sono a tutt'oggi test specifici per la diagnosi di m. di K. mentre è possibile mettere in evidenza fino dai primi giorni di malattia una forte positività degli indici di flogosi: VES elevatissima, PCR presente, mucoproteine elevate, leucocitosi neutrofila con numerosissime *band-cells*, aumento delle $\alpha_2$-globuline e non costante delle IgE. Fra la 3ª e la 4ª settimana si può riscontrare intensa piastrinosi (anche 1.000.000 $mm^3$), la quale incrementa il rischio di trombosi in quanto si associa a un significativo aumento del trombossano $A_2$, potente aggregante derivato dal metabolismo dell'ac. arachidonico delle piastrine.

**Diagnosi e diagnosi differenziale**

Non essendovi dati di laboratorio specifici, la diagnosi è esclusivamente clinica e si basava, fino al 1983, sul riscontro di almeno 5 dei 6 sintomi principali, mentre oggi è accettata la possibilità di porre la diagnosi anche sulla base di 4 soli sintomi principali (forme incomplete o atipiche), naturalmente dopo accurata esclusione di altre forme morbose. I 6 sintomi principali sono: 1) febbre elevata che dura da più di 5 giorni, resistente agli antibiotici; 2) congiuntivite non purulenta; 3) enantema, lingua a fragola, labbra fissurate; 4) esantema morbilliforme o scarlattiniforme; 5) eritema palmare e plantare, edema duro e successiva desquamazione; 6) adenite laterocervicale non suppurativa (1,5 cm di diametro). Per la diagnosi differenziale si debbono attentamente escludere malattie con sintomatologia similare, e fra queste, per prima, la scarlattina, la quale però risponde rapidamente al trattamento antibiotico, la mononucleosi infettiva, la leptospirosi, alcune rickettsiosi (la febbre bottonosa) e la sindrome dello shock tossico, che colpisce, però, soprattutto adolescenti e giovani adulte. Di regola i sintomi della malattia e la loro successione sono talmente peculiari che la diagnosi risulta abitualmente facile.

**Prognosi**

La precocità della diagnosi, i più severi controlli clinici e strumentali, nonché la modificazione di vecchie terapie e l'introduzione del trattamento con immunoglobuline gamma per via e. v. hanno migliorato la prognosi *quoad vitam*. Tuttavia in caso di aneurismi coronarici indipendentemente dal trattamento la mortalità a lungo termine resta invariata essendo stata segnalata l'insorgenza di miocardiopatia ischemica anche a distanza di anni.

Asai (1983) ha elaborato una metodica a punteggio per la valutazione della gravità del quadro clinico in base ai dati clinici, di laboratorio ed elettrocardiografici in cui i rilievi più significativi (valore: 2 punti ciascuno) sono in sintesi i seguenti: stato febbrile della durata di più di 15 giorni, continuo o ad andamento bifasico; leucocitosi > 30.000/mm; VES > 101 e/o andamento bifasico; ECG alterato (rapporto Q/R > 0,3 DII, DIII e in aVF); sintomi clinici ed elettrocardiografici di ischemia miocardica.

Allorché il punteggio risulta ≥ 9 sembra essere quasi inevitabile il rilievo arteriografico della presenza di aneurismi.

**Terapia**

Nessun antibiotico si è dimostrato in grado di modificare il decorso della malattia; pertanto il trattamento è sintomatico e varia di intensità secondo il momento e la situazione clinica. L'ac. acetilsalicilico (ASA) rappresenta sempre il trattamento di base per la sua azione antipiretica, antiflogistica e antiaggregante, e a esso vanno eventualmente aggiunti altri trattamenti in relazione alla fase e alla gravità del quadro clinico.

Nella 1ª fase senza compromissione cardiaca: ASA (o flurbiprofene) in associazione con steroidi, o con immunoglobuline gamma (IgG) per via e. v. in casi selezionati. Nei casi a rischio o nei pazienti gravi ASA + IgG per via e. v., exsanguinotrasfusione e plasmaferesi, associando dipiridamolo.

Nei primi 15 giorni sono consigliate dosi elevate di ASA: 50-100 mg/kg/*die* e oltre (Koren *et al.*, 1985), per l'azione antiflogistica e antipiretica; successivamente come antiaggregante (in base soprattutto a ricerche sperimentali sui rapporti fra ASA-trombossano $A_2$ piastrinico e ASA-prostaciclina endoteliale aggregante) sembrano da preferirsi dosaggi di 5 mg/kg/*die*.

È noto, infatti, che sia il trombossano $A_2$ che la prostaciclina sono prodotti a partire dall'ac. arachidonico per azione delle ciclossigenasi, attraverso il ciclo dei perossidi e in seguito all'azione, rispettivamente, della trombossano $A_2$-sintetasi (piastrine) e della $PGI_2$-sintetasi (cellule endoteliali).

L'ASA agisce sulle due sostanze tramite il blocco delle ciclossigenasi, ma tale azione sarebbe dosedipendente in quanto, mentre una bassa dose sarebbe in grado di inibire la produzione di trombossano $A_2$ nelle piastrine prive di nucleo, per contro non riuscirebbe a modificare sostanzialmente la produzione di prostaciclina endoteliale, la quale può svolgere ancora la sua azione antiaggregante e vasodilatatrice riducendo il rischio di trombosi.

L'uso del flurbiprofene (4 mg/kg/*die*) è indicato in sostituzione dell'ASA allorché le transaminasi siano superiori a 100 U.I./ml.

Il dipiridamolo (2-4 mg/kg/*die*), sempre in associazione con ASA, è consigliato per la sua azione favorente la produzione di prostaciclina ed inibente la fosfodiesterasi piastrinica.

La terapia steroidea, ipotizzabile in base all'azione immunodepressiva, stabilizzatrice di membrana e alla produzione di macrocortina bloccante l'attività fosfolipasica A2, potrebbe essere impiegata, sempre in associazione con ASA, ma solo nelle prime 2 settimane, perché nel periodo successivo potrebbe ulteriormente incrementare la piastrinosi, nonché inibire la produzione dei fibroblasti cui si deve la riparazione del danno vascolare.

L'uso di alte dosi di immunoglobuline integre e. v. (400 mg/kg/*die* per 4-5 giorni) proposto con successo da Furushu *et al.* (1984) e confermato anche da Newburger *et al.* (1986) sarebbe consigliato soprattutto nei casi di alta e media gravità.

L'exsanguinotrasfusione e la plasmaferesi, utilizzate con successo dagli AA. francesi, sarebbero indicate nei casi gravissimi.

La terapia con ASA a basse dosi va proseguita fino alla scomparsa completa degli aneurismi controllati ecograficamente e con arteriografia. Le decisioni sul trattamento chirurgico dei bambini con aneurismi, in base alle raccomandazioni del Comitato giapponese per le sequele cardiovascolari, debbono essere prese collegialmente (Kawasaki Disease Research Committee, 1987) da pediatra, cardiologo e cardiochirurgo.

**Bibliografia**

Asai T., *Acta Pediatr. Jpn.*, 1983, **25**, 170.
Di Piero G., Stirpe S. *et al.*, *Medicina-Riv. EMI*, 1983, **3**, 17.
Di Piero G., Cupini V. *et al.*, *Fed. Med. Chir.*, 1986, **8**, 233.
Di Piero G., Cupini V. *et al.*, *La malattia di Kawasaki*, Relaz. Sez. Laziale SIP, Roma, 4 aprile 1988.





Digitized by Google

Fujiwara J., Hamashima Y., *Pediatrics*, 1978, **61**, 100.
Furukawa F. *et al.*, *Eur. J. Pediatr.*, 1986, **145**, 104.
Furushu K., Nakano H. *et al.*, *Lancet*, 1984, **II**, 1055.
Kato S., Kimura M. *et al.*, *Pediatrics*, 1978, **61**, 252.
Kato H., Koide S., Yokoyama T., *Pediatrics*, 1979, **63**, 175.
Kawasaki T., *Jpn. Allergol.*, 1967, **16**, 178.
Kawasaki T., *Acta Paediatr. Jpn.*, 1983, **25**, 79.
Kawasaki Disease Research Committee: Guideline for treatment and management of cardiovascular sequelae in Kawasaki disease, *Acta Pediatr. Jpn.*, 1987, **29**, 109.
Koren G., Rese V. *et al.*, *JAMA*, 1985, **254**, 767.
Krensky A. M., Berenberg V. *et al.*, *Pediatrics*, 1981, **67**, 41.
Leung D. Y. M. *et al.*, *Immunol. Immunopathol.*, 1982, **23**, 100.
Newburger J. W. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1986, **315**, 341.
Shulman S. T., Rowley M. E., *Lancet*, 1986, **1**, 545.

GIORGIO DI PIERO

## KEARNS-SAYRE, SINDROME DI

La sindrome di Kearns-Sayre è una malattia genetica, multisistemica dominata da alterazioni muscolari e da un'oftalmoplegia esterna progressiva, variamente associate ad altri disturbi.

La malattia è stata tradizionalmente classificata nel gruppo delle miopatie mitocondriali o da accumulo di lipidi per il gran numero di mitocondri alterati e le inclusioni lipidiche presenti nelle fibrocellule muscolari. Negli ultimi anni, però, è emerso che il legame mitocondri-malattia è più stretto di quanto si credesse in precedenza e riguarda le stesse basi biologiche della sindrome. Indagini condotte sul DNA mitocondriale hanno ripetutamente indicato la presenza di delezioni a carico della macromolecola nella quasi totalità dei casi, un rilievo che suggerisce fortemente la natura genetica della malattia. La delezione è stata trovata, oltre che nelle cellule muscolari, anche nei globuli bianchi, nelle piastrine, nei fibroblasti, nel fegato e nel cervello anche se, in uno stesso paziente, con percentuali differenti nei diversi tessuti. Ciò, secondo un'ipotesi formulata, può spiegare perché il danno funzionale non sia lo stesso in tutti gli organi.

Anche considerata l'incidenza sporadica della sindrome, non è ancora del tutto chiaro, d'altra parte, il modo in cui si determinerebbe il danno genetico. Sebbene le delezioni possano essere ereditate dalla madre (non dal padre perché il citoplasma, e quindi anche i mitocondri potenzialmente malati, dello zigote provengono tutti dall'ovocita), le indagini sinora condotte escludono questa ipotesi per l'assenza della malattia nella madre o in altri membri della famiglia. La sindrome, pertanto, è attribuibile a una mutazione spontanea del DNA mitocondriale, o nell'ovocita o nello zigote.

Per quanto riguarda la natura del danno biochimico che lega l'alterazione genetica alla sintomatologia, sono state dimostrate modificazioni a carico di alcuni enzimi della catena respiratoria presenti nei mitocondri ed è interessante a riguardo l'osservazione che queste alterazioni rappresentano un denominatore comune di danni diversi, della s. di K.-S. e così pure di altre malattie mitocondriali. È stata pertanto fatta l'ipotesi che il DNA mitocondriale funzioni come una singola unità genetica, o che comunque un danno localizzato possa avere, in proporzione, ripercussioni più gravi che non nel caso del DNA nucleare.

Questi risultati indicano, allo stesso tempo, che l'espressione *miopatia mitocondriale* è in qualche misura fuorviante in quanto la malattia è multisistemica, colpisce cioè più organi e il suo elemento caratterizzante, alla luce dei dati in nostro possesso, non è tanto la miopatia quanto, appunto, il danno genetico a carico del DNA mitocondriale. Per questo oggi viene più opportunamente catalogata tra le *malattie mitocondriali*, gruppo nel quale rientrano miopatie ed encefalopatie di varia natura (v. anche MITOCONDRI*).

All'esame microscopico, le fibre muscolari tipo I hanno morfologia raggiata per l'accumulo di mitocondri nel sarcoplasma e l'aspetto del preparato quando si usa la colorazione di Gomori ha fatto coniare l'espressione di «fibre rosse raggiate». Il rilievo non è però caratteristico della s. di K.-S. e si trova in altre malattie mitocondriali (v. anche MITOCONDRI*), delle quali, nel loro complesso, rappresenta un tratto morfologico distintivo.

La sindrome compare in genere nell'infanzia, e comunque prima dei 20 anni, ed è caratterizzata da oftalmoplegia esterna progressiva, retinopatia pigmentaria, ipoplasia muscolare, cui si accompagnano, variamente associati tra loro, disturbi della conduzione cardiaca che sfociano in genere in un blocco completo, bassa statura, aumento della proteinorrachia oltre 1 g/l, atassia cerebellare, difetti gonadici vari associati a pubertà ritardata, amenorrea e diabete.

Alla diagnosi si arriva in genere per gradi. La presenza e l'andamento temporale dei sintomi elencati, e in particolare di quelli muscolari, suggeriscono l'esistenza di una miopatia, in parte confermata dall'acidemia lattica e da un più alto rapporto tra lattato e piruvato ematici. Se questo rilievo è associato anche all'incremento (> 2 : 1) del rapporto tra ac. 3-idrossibutirrico e ac. acetacetico, è molto probabile si tratti di una miopatia mitocondriale. La s. di K.-S., a quel punto, può essere diagnosticata se il paziente presenta, oltre alla miopatia, anche oftalmoplegia esterna, degenerazione retinica, blocco cardiaco e iperproteinorrachia.

**Bibliografia**

Moraes C. T. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1989, **320**, 1293.
Scriver C. R., Beaudet A. L., Sly W. S., Valle D., *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, 1989, McGraw-Hill, New York.
Zeviani M. *et al.*, *Neurology*, 1988, **38**, 1339.
Zeviani M. *et al.*, *Neurol. Clin.*, 1989, **7**, 123.

STEFANO CAGLIANO

## KETANSERINA

F. *kétanserine*. - t. *ketanserin*. - T. *Ketanserin*. - S. *quetanserina*.

La ketanserina (Serepress®; Sufrexal®) è un derivato chinazolonico recentemente posto in commercio per il trattamento dell'ipertensione arteriosa (v.*).

### Meccanismo d'azione

Il meccanismo d'azione attraverso cui la k. esplica la sua attività antipertensiva non è ancora completamente chiarito (Robertson *et al.*, 1987; Vanhoutte *et al.*, 1986). Inizialmente, l'azione antipertensiva è stata attribuita a un blocco dei recettori serotoninergici $5HT_2$. Questi sono localizzati a livello delle cellule muscolari lisce vascolari e all'interno delle piastrine. La loro attivazione determina, rispettivamente, vasocostrizione (sia diretta che indiretta, per potenziamento degli effetti di noradrenalina e angiotensina) e aggregazione piastrinica.

L'azione antiserotoninergica rappresenta, tuttavia, uno dei possibili meccanismi d'azione della k.; si ipotizza che il blocco di recettori alfa-1, già evidenziato negli studi su animali, possa contribuire all'azione antipertensiva.

Ulteriori ipotesi sono: una possibile azione a livello centrale e l'inibizione della secrezione di aldosterone.

### Farmacocinetica

La k. (Reimann *et al.*, 1983) subisce ampiamente l'estrazione epatica di primo passaggio, e la sua biodisponibilità, dopo somministrazione orale, è di circa il 50%; i picchi di concentrazione plasmatica vengono raggiunti dopo 1-2 h.





Digitized by Google

I valori medi di emivita plasmatica riportati in letteratura vanno dalle 9 alle 14 h, consentendo 2 somministrazioni al giorno. Il farmaco viene quasi completamente metabolizzato a livello epatico, con la produzione di 5 metaboliti, tutti inattivi. Pertanto, mentre non si rendono necessarie specifiche modifiche di posologia nel paziente anziano e nel nefropatico, il dosaggio va opportunamente ridotto nel paziente con insufficienza epatica.

**Indicazioni**

L'indicazione principale della k. è il trattamento dell'*ipertensione essenziale*. Negli studi controllati, la k. *per os* si è dimostrata significativamente superiore al *placebo* nel diminuire la pressione sistolica e diastolica.

In ulteriori studi la k. ha dimostrato efficacia e tollerabilità sovrapponibili a quelle dei diuretici tiazidici (idroclorotiazide), betabloccanti (propranololo, atenololo, pindololo, metoprololo), nonché nifedipina, metildopa e prazosin. Utilizzata in associazione con betabloccanti o diuretici, la k. determina un potenziamento dell'azione antipertensiva.

Questi risultati non trovano tuttavia piena conferma in altri due studi (Waller *et al.*, 1987; Cameron *et al.*, 1987): in uno studio, la k., confrontata con nifedipina *retard* nei pazienti non responsivi all'associazione diuretici + betabloccanti, si è dimostrata significativamente inferiore nel diminuire la pressione arteriosa; nell'altro, l'associazione di k. con tiazidici o atenololo non ha evidenziato il potenziamento della risposta riportato da altri AA. Quest'ultimo studio sottolinea inoltre la comparsa di numerosi effetti collaterali nei pazienti trattati con k.

Questi risultati in parte contrastanti, al di là del peso relativo del singolo studio, sottolineano la necessità di condurre ulteriori sperimentazioni su numeri elevati di pazienti e per periodi di tempo protratti, per poter arrivare a considerazioni conclusive non solamente sulla efficacia, ma anche sulla tossicità della nuova molecola.

Un'altra indicazione per la quale il farmaco è stato commercializzato è nelle *emergenze ipertensive*, somministrato per via parenterale. Gli studi a disposizione sull'efficacia della k. per via parenterale nelle emergenze ipertensive non sono numerosi. In uno più recente (Milei *et al.*, 1987), su 50 pazienti con emergenze ipertensive, la k. si è dimostrata efficace e sicura nel diminuire la pressione, per somministrazione sia e. v. che i. m.

La k. è stata utilizzata con risultati positivi anche nel trattamento delle *crisi ipertensive acute in chirurgia*.

La k. è stata impiegata nella *claudicatio intermittens* e nei *disturbi vasospastici di origine traumatica*. Tuttavia, i risultati positivi nella *claudicatio intermittens* riscontrati nei primi studi controllati verso *placebo*, non sono stati successivamente confermati.

Anche se in alcuni degli studi più recenti la k. presentava una risposta più favorevole rispetto al *placebo*, le differenze non erano statisticamente significative. Poiché è facile riscontrare in questa patologia una risposta positiva al *placebo*, risulta estremamente importante, ai fini di un giudizio positivo, poter disporre di studi condotti correttamente in cui le differenze siano statisticamente significative.

La k. è stata utilizzata anche:

nel trattamento dell'*eclampsia* (Hulme e Odendaal, 1986), con risultati incoraggianti anche se necessitano di una conferma su numeri più elevati di pazienti;

nel trattamento dei *sintomi da sindrome carcinoide*, in cui si verifica un massivo rilascio di serotonina;

nei *disturbi ostruttivi cronici non asmatici* (Cazzola *et al.*, 1987) mediante un'azione broncodilatatrice;

nell'*ipertensione arteriosa polmonare* in pazienti con ARDS (*Adult Respiratory Distress Syndrome*) (Radermacher *et al.*, 1988), nei quali ha dimostrato di possedere un'efficacia simile al nitroprussiato sodico con minori effetti collaterali.

Queste indicazioni, per l'esperienza limitata, vanno considerate sperimentali.

**Effetti collaterali**

In letteratura sono riportati un certo numero di effetti collaterali. Più spesso si tratta di disturbi a carico del S.N.C. quali cefalea, sonnolenza, confusione mentale, sedazione, secchezza delle fauci, dispepsia ed edema periferico.

Questi effetti si verificano con maggiore frequenza nei primi giorni di trattamento e tendono ad attenuarsi nel tempo. Raramente si manifestano disturbi gastrointestinali e reazioni allergiche.

La k. non determina variazioni significative dell'emodinamica cardiovascolare: frequenza cardiaca e resistenze vascolari periferiche rimangono invariate; si rileva, invece, un lieve allungamento dell'intervallo QT, il cui significato clinico è, al momento, non chiaro.

**Dosaggio**

La posologia iniziale consigliata di k. è di 20 mg *per os*, 2 volte al giorno, con un eventuale incremento della dose a 40 mg, 2 volte al giorno.

In caso di somministrazione e. v. il dosaggio va individualizzato sulla base della risposta del paziente. Alcuni tra gli studi in cui la k. è stata utilizzata per via parenterale riportano un dosaggio di 5-10 mg e. v. somministrati lentamente (circa 3 min), seguiti, eventualmente, da un'infusione continua di 4 mg/h.

**Bibliografia**

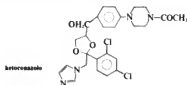
Cameron H. A. *et al.*, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 1987, **24**, 705-711.
Cazzola M., D'Amato G. *et al.*, *Chest*, 1987, **92**, 863-866.
Hulme V. A., Odendaal H. J., *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1986, **155**, 260-263.
Milei J., Lemus J., Schiavone M., Lucioni M. C., *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 1987, **10** (Suppl. 3), S96-S100.
Radermacher P., Huet Y., Pluskwa F. *et al.*, *Anesthesiology*, 1988, **68**, 152-157.
Reimann I. X., Okonkwo P. O., Klotz V., *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 1983, **25**, 73.
Robertson J. I. S., Stott D. J., Ball S. G., *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 1987, **10** (Suppl. 3), S45-S47.
Vanhoutte P. M. *et al.*, *Trends Pharmacol. Sci.*, 1986, **7**, 58.
Waller P. C. *et al.*, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 1987, **24**, 591.

GIOVANNA SCROCCARO

## KETOCONAZOLO

F. *kétoconazole*. - I. *ketoconazole*. - T. *Ketoconazol*. - S. *quetoconazolo*.

**Struttura, meccanismo e spettro d'azione**

Antifungino utilizzabile per via orale nelle micosi cutanee e sistemiche, appartenente al gruppo degli imidazolici (v. ANTIMICOTICI*); recenti ricerche hanno esteso la sua utilizzazione ad altre patologie.

ketoconazolo

## KETOCONAZOLO

Il ketoconazolo inibisce la sintesi dell'ergosterolo nei funghi e del colesterolo nelle cellule dei mammiferi, legandosi al ferro eminico del citocromo P-450 e inibendone, quindi, la funzione enzimatica. Nella cellula fungina il citocromo P-450 regola la tappa di demetilazione che converte il 14-α-metilsterolo a ergosterolo, e perciò inibisce la sintesi degli steroli, importanti costituenti della membrana cellulare fungina, la cui permeabilità viene così alterata. L'attività antifungina è diretta contro gran parte dei funghi patogeni, quali *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Paracoccidioides braziliensis*, *Blastomyces dermatitidis* (agente della blastomicosi nordamericana o malattia di Gilchrist), *Candida albicans* (alcuni ceppi) e inoltre dermatofiti (*Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton*) e *Malassezia furfur*.

Va altresì sottolineato che dosi elevate di k. inibiscono l'attività enzimatica del citocromo P-450 anche a livello di molti organi (testicoli, ovaio, ghiandole surrenali, rene e fegato). Una conseguenza di tale inibizione è la riduzione della steroidogenesi e quindi della produzione ormonale da parte delle gonadi e del surrene; quest'effetto endocrino, dosedipendente e totalmente reversibile, viene utilizzato a fini terapeutici (per il suo impiego nel Cushing, v. CUSHING, MORBO E SINDROME DI*).

### Biodisponibilità e farmacocinetica

Dopo somministrazione orale, il farmaco viene bene assorbito (meglio a stomaco vuoto) e raggiunge il picco plasmatico a distanza di circa 2 h; la vita media plasmatica varia dalle 6 alle 9 h. Seppure altamente legato alle proteine plasmatiche (84-89%), possiede una buona diffusibilità tessutale e si ritrova infatti nella bile, nella saliva, nel sebo, nel cerume e nel liquido sinoviale; purtuttavia, diffonde poco nel liquor (3-7% dei livelli sierici) e raggiunge basse concentrazioni nelle urine. Il k. è largamente metabolizzato a livello epatico in composti inattivi; viene eliminato con la bile, le feci, e, in misura minore, con le urine.

### Indicazioni cliniche

*Micosi sistemiche*: candidosi cronica mucocutanea (v. CANDIDOSI*), paracoccidioidomicosi (forme di gravità medio-moderata), blastomicosi e istoplasmosi, coccidioidomicosi non meningea (forme non gravi).

*Micosi cutanee*: dermatofitosi (*tinea capitis*, *corporis*, *cruris*, *pedis* e *manuum*, *unguium*) nelle situazioni che richiedano l'uso di un antifungino sistemico; rappresenta una valida alternativa alla griseofulvina ed è efficace anche in casi a essa resistenti.

*Candidosi* vulvovaginale, orale, cutanea ed ungueale. *Pityriasis versicolor*.

Il farmaco viene attualmente valutato anche nelle seguenti affezioni.

*Carcinoma prostatico*. Poiché sopprime la sintesi gonadica di testosterone e la sintesi surrenalica degli androgeni correlati, il k. viene utilizzato nei casi resistenti alle terapie convenzionali.

*Ipercorticosurrenalismo*. Poiché il farmaco è un potente inibitore della produzione di cortisolo, è stato utilizzato nella terapia palliativa della sindrome di Cushing.

### Controindicazioni

Storia di ipersensibilità al farmaco; gravidanza, allattamento; insufficienza epatica.

### Modalità di somministrazione e dosi usuali

Il farmaco viene somministrato *per os* alle seguenti dosi:

nella terapia delle micosi sistemiche, adulti: 400-800 mg/*die* (bambini oltre i 2 anni: 6,6 mg/kg/*die*) per 6 mesi o più;

nella candidosi cronica mucocutanea: 200 mg/*die* per 6-12 mesi;

nella dermatofitosi e nella candidosi orale, cutanea e vaginale: 200-400 mg/*die*;

nel carcinoma prostatico e nell'ipercorticosurrenalismo: dosi più elevate e refratte (400 mg, 3 volte al dì) per durata variabile.

### Effetti indesiderati

Il k. risulta generalmente ben tollerato e ha indice terapeutico migliore sia dell'anfotericina B che del miconazolo e.v. Gli effetti indesiderati di più frequente riscontro sono a carico dell'apparato gastrointestinale: nausea, vomito, aumento delle transaminasi (ma l'epatite acuta è rara, con incidenza intorno all'1‰). A dosi più elevate e protratte, a causa dell'inibizione della steroidogenesi, si osservano: ginecomastia, perdita della *libido*, oligospermia, e talvolta insufficienza surrenalica; tali effetti indesiderati sono totalmente reversibili con la sospensione del trattamento.

### Interazioni d'importanza clinica

A causa dell'interferenza con l'attività degli enzimi microsomali epatici, il k. potenzia gli anticoagulanti orali, diminuisce la concentrazione sierica di rifampicina, favorisce l'accumulo della ciclosporina e inibisce la biodisponibilità del metilprednisolone.

### Bibliografia


Anonimo, *Ketoconazole*, in *Antifungal Agents for Systemic Mycoses*, in *AMA Drug Evaluations*, 1989, American Medical Association, Chicago.

Menichetti F., *Ketoconazolo*, in *Medicina-Riv. EMI*, 1984, 4, (scheda farmacologico-clinica).

Sonino N., *N. Engl. J. Med.*, 1987, **317**, 812.



FRANCESCO MENICHETTI


## KHAT

SOMMARIO



### Introduzione

Pianta di modeste dimensioni e dal fusto legnoso, la *Catha edulis Forsk* cresce spontanea sugli altipiani dell'Africa Orientale e della Penisola Araba. Tra gli abitanti di questi territori da molti secoli è invalso l'uso di masticarne le foglie (fig. 1) e i germogli allo scopo di sperimentare i suoi effetti psicostimolanti ed euforizzanti.

L'antichità di questa consuetudine è attestata dalla varietà di termini con cui si indica la droga. Così, ad es., nell'Africa nera i Kikuyu la chiamano *miraa* e i Masai *ol-meraa*. Tra le popolazioni di più antica tradizione islamica, le foglie e i germogli della *Catha edulis* sono invece designati da varianti fonetiche di una parola araba, della cui translitterazione la più precisa ortografia è *qat* (v.) o *kat*. La forma *khat* non appare invece giustificata. Sfortunatamente è proprio quest'ultima forma ortografica che ha preso il sopravvento nella letteratura scientifica internazionale ed è quindi per esigenze pratiche di consultazione bibliografica che la adottiamo in questa voce.

Considerato a lungo come una curiosità etnografica, il k. ha raccolto una attenzione molto marginale nel processo di regolamentazione internazionale delle sostanze ritenute d'abuso. Gli ultimi quindici anni hanno visto tuttavia l'innescarsi di una improvvisa fiammata d'interesse che ha portato, da un lato, alla definizione molto dettagliata delle caratteristiche farmacognostiche del k. e delle sue proprietà farmacologiche, e, dall'altro, al bando del suo com-




Digitized by Google

Fig. 1. La fotografia mostra un fascetto di k. (*marduuf*, in somalo). Notare che esso è avvolto in foglie di banano per rallentarne l'essiccamento e quindi la perdita di attività. Probabile origine: Kenia.

O, $CH_3$, $NH_2$ 1 catinone

OH, $CH_3$, $NH_2$ 2 catina

$CH_3$, $NH_2$ 3 anfetamina

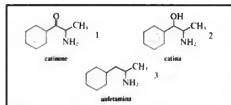



Fig. 2. Formule di struttura del catinone (1), catina (2) e anfetamina (3).

mercio in alcuni paesi (ad. es., Arabia Saudita e Somalia) e all'inserimento dei suoi principi attivi, catinone e catina (fig. 2), nella lista delle sostanze d'abuso della Convenzione di New York.

**Proprietà farmacologiche**

Non vi è dubbio che il k. svolga ben definite azioni farmacologiche. Come mostra la tab. I, la sua ingestione causa nell'uomo effetti soggettivi simili a quelli prodotti dall'anfetamina e consistenti in uno stato euforico associato a una aumentata vigilanza e a una presunzione di maggior vigore intellettuale. Similmente a quanto osservato con l'anfetamina, non è infrequente che il k. causi tuttavia effetti apparentemente paradossi di disforia. Insonnia e ridotto appetito sono inevitabilmente associati alla sua assunzione.

**TAB. I. EFFETTI DELLA ASSUNZIONE DI KHAT NELL'UOMO**

| | |
|---|---|
| Umore | + |
| Appetito | – |
| Pressione arteriosa | + |
| Frequenza cardiaca | 0 |
| Frequenza respiratoria | + |
| Temperatura corporea | + |
| ACTH ematico | + |
| GH ematico | + |
| Prolattina ematica | 0 |
| Catecolamine urinarie | + |

+ = aumento statisticamente significativo ($p < 0{,}05$ vs. livelli basali); – = riduzione statisticamente significativa; 0 = nessuna variazione.

Al pari dell'anfetamina, il k. produce effetti periferici, quali aumento della pressione arteriosa, della frequenza respiratoria e della temperatura corporea, riconducibili a una attivazione del sistema simpatico. Attivazione, del resto, documentata dall'aumento dell'escrezione urinaria di catecolamine. Anche le modificazioni ormonali prodotte dalla ingestione di k. sono compatibili con un meccanismo d'azione anfetaminosimile; vi è infatti un aumento significativo dei livelli plasmatici di corticotropina e di ormone somatotropo, mentre restano immodificati i livelli di prolattina.

È importante osservare che processi adattativi vengono innescati dalla assunzione cronica di k. e, in particolare, è rilevabile un certo grado di tolleranza agli effetti simpaticomimetici.

Gli effetti anfetaminosimili del k. sono, con ogni probabilità, dovuti al suo contenuto in catinone e catina, composti, che, sia strutturalmente che farmacologicamente, sono da considerarsi appartenenti alla classe delle anfetamine. Al pari di questi farmaci, infatti, sia il catinone che la catina svolgono azioni periferiche di tipo simpaticomimetico. L'attivazione locomotoria, le stereotipie e l'anoressia sono tra gli effetti centrali del catinone e della catina che più da vicino richiamano un meccanismo d'azione anfetaminosimile. A livello molecolare tale comune meccanismo d'azione è stato individuato nell'aumento delle concentrazioni di noradrenalina e dopamina a livello recettoriale. Dei due composti, il catinone è sicuramente il più potente.

Una notevole attenzione è stata dedicata a stabilire il potenziale d'abuso dei principi attivi del k. È ormai ben assodato che il catinone è in grado di mantenere il comportamento di autosomministrazione nella scimmia, un modello sperimentale dotato di elevata predittività riguardo le capacità di un farmaco di indurre abuso nell'uomo. Il catinone possiede inoltre, in maniera molto meno marcata rispetto all'anfetamina, la proprietà di indurre avversione condizionata a un sapore. Siccome questa proprietà sembra limitare l'abuso di una sostanza, si è congetturato che il catinone sia dotato di potenzialità d'abuso molto maggiori di quelle proprie dell'anfetamina e simili, invece, a quelle della cocaina.

Le possibilità che si formi un mercato illegale del catinone sono tuttavia insignificanti, data la difficoltà nella sintesi del composto e la sua notevole instabilità. Né d'altra parte è pensabile che tali proprietà del catinone possano trovare piena espressione nel k. Il sapore sgradevole della droga, particolarmente ricca in tannini, costituisce un notevole deterrente al suo abuso. Inoltre, la quantità di catinone ingeribile è fortemente limitata dal volume delle foglie che lo contengono. È probabile quindi che, al di là delle proprietà farmacologiche del k., il suo consumo sia il frutto di una consuetudine che trova la sua ragion d'essere in fattori culturali.

**Fattori culturali nel consumo del khat**

Tra le popolazioni islamiche in cui il consumo di k. è radicato, la religione islamica viene chiamata a svolgere una funzione di sanzione e di supporto a tale consumo, attraverso l'elaborazione di mitologie che gli attribuiscono una origine miracolosa. Numerose varianti di questo mito sono state documentate e qui di seguito è riferita quella raccolta alcuni anni fa dall'A. tra i consumatori di k. a Mogadiscio.





Digitized by Google

«Secondo una leggenda molto diffusa nella regione dell'Ogaden, e più precisamente a Gig-Giga, durante il periodo di diffusione dell'Islam in Somalia (sec. XI-XII) visse un santone, assai venerato dalla popolazione, di nome Shek-abaadir. Alla sua morte tale venerazione non venne meno e la sua tomba divenne meta del pellegrinaggio dei fedeli, finché un giorno alcuni santoni osservarono che su di essa era cresciuta una pianta: ne assaggiarono le foglie e ben presto si avvidero che potevano mandare a memoria i versetti del Corano e pregare tutta la notte, senza affaticarsi. Quella pianta era il khat ed era stata donata dal santone ai fedeli perché potessero meglio onorare Allah».

L'elaborazione di miti del genere è una prova inconfutabile che, almeno in epoca storica, il k. ha occupato una posizione non marginale nella cultura delle popolazioni in cui il suo consumo si è diffuso e che verso di esso non si è strutturato quell'atteggiamento collettivo di rifiuto che scredita l'uso di sostanze psicotrope, attribuendogli le caratteristiche di un abuso.

Il k. ha tuttavia mostrato nei secoli una ben scarsa capacità di varcare i confini di quegli altipiani che sono l'habitat indispensabile per la sua coltivazione. A ciò hanno indubbiamente contribuito fattori culturali, come suggerito dal fatto che, di norma, anche dove più è radicato il consumo di k., esso non coinvolge i residenti appartenenti a culture diverse da quella autoctona, quali europei o asiatici. Accanto ai fattori culturali, un importante ostacolo alla diffusione del k. è probabilmente costituito dalla necessità di consumarlo prima possibile, poiché, essiccandosi, la droga perde le sue proprietà psicofarmacologiche gratificanti. Non a caso, il k. viene accuratamente esaminato prima di essere acquistato e rimane invenduto quel materiale che è stato raccolto da più di 4 giorni. L'analisi chimica ci dà ragione di questo comportamento del consumatore: l'essiccamento produce una progressiva decomposizione del catinone.

**Diffusione in Europa**

Se la segregazione del k. è stato il risultato dell'interagire di fattori culturali e di esigenze pratiche legate alla deperibilità del prodotto, i recenti flussi migratori dalle terre di origine verso l'Europa e la possibilità di trasportarlo per via aerea — e quindi in giornata — lungo le stesse direttrici del flusso migratorio, dovrebbero aver portato al diffondersi dell'uso del k. in Europa. In effetti, negli ultimi 5 anni sono state pubblicate diverse segnalazioni provenienti da reparti psichiatrici di ospedali inglesi e riguardanti la richiesta di assistenza da parte di soggetti mediorientali che dichiaravano di avere assunto k. e che erano in preda a psicosi acute. Se il nesso causale tra l'episodio psicotico e l'assunzione di k. resta da dimostrare, è tuttavia chiaro che tali segnalazioni suggeriscono l'attestarsi del consumo di k. in Gran Bretagna. Questo paese non è del resto l'unico a essere coinvolto nel diffondersi del k. Sicuramente lo è anche l'Italia o, almeno, Roma. Un recente studio dimostra infatti che non solo è possibile acquistare il k. a Roma, ma che esso vi è consumato regolarmente. Sebbene il campione di consumatori intervistati sia piccolo (20 persone) e quindi insufficiente per trarre conclusioni sulle dimensioni del fenomeno, vi sono alcuni aspetti delle dichiarazioni di tali consumatori che meritano attenzione. In particolare, è importante osservare che le modalità con cui viene consumato il k. a Roma sembrano del tutto simili a quelle tradizionali. La seduta di consumo conserverebbe quindi le caratteristiche di strumento di socializzazione all'interno della comunità. Inoltre, solo 3 soggetti sui 20 intervistati dichiaravano di assumere alcolici durante la seduta, mentre gli altri preferivano il tradizionale tè. Poiché quei 3 soggetti erano anche gli unici che dichiaravano di assumere alcolici indipendentemente dalla seduta di consumo di k., v'è da chiedersi se nel consumatore abituale di k. non vi sia una scarsa propensione ad assumere alcol.

È comunque probabile che una eventuale preferenza del consumatore verso il k. rispetto all'alcol non sia dovuta tanto a un maggiore potere di gratificazione del k. rispetto all'alcol, quanto piuttosto alla forza delle tradizioni che da una parte lo pongono al riparo del discredito sociale attribuito alle sostanze d'abuso e dall'altro ne fanno elemento di identificazione etnica.

**Bibliografia**

Brenneisen R., Geisshusler S., *Pharm. Acta Helv.*, 1985, **60**, 290-301.
Chritchlow S., Seifert R., *Br. J. Psychiatry*, 1987, **150**, 247-249.
Gough S., Cookson I., *Lancet*, 1984, 1, 455.
Kalix P., Braenden O., *Pharmacol. Rev.*, 1985, **37**, 149-164.
Krikorian A. D., *J. Ethnopharmacol.*, 1984, **12**, 115-178.
Mc Laren P., *Br. J. Psychiatry*, 1987, **150**, 712-713.
Nencini P., Abdullahi M. A., *Drug Alcohol Depend.*, 1989, **23**, 19-29.
Nencini P., Abdullahi M. A., Amiconi G., Abdullahi G. E., *Pharmacology*, 1984, **28**, 150-154.
Nencini P., Amhed A. M., Elmi A. S., *Drug Alcohol Depend.*, 1986, **18**, 97-105.
Nencini P., Amiconi G., Befani O., Abdullahi M. A., Anania M. C., *J. Ethnopharmacol.*, 1984, **11**, 79-86.
Nencini P., Anania M. C., Abdullahi M. A., Amiconi G., Elmi A. S., *International Conference on Khat: the Health and Socio-Economic Aspects of Khat Use*, Antananarive, January 17-21, 1983, 148-152.
Nencini P., Grassi M. C., Botan A. A., Asseyr A. F., Paroli E., *Drug Alcohol Depend.*, 1989, **23**, 255-258.
Nencini P., Hussen M. Y., Mohamed M. X., *Clin. Ter.*, 1978, **85**, 223-236.

PAOLO NENCINI

## KIKUCHI, MALATTIA DI

Nel 1972 M. Kikuchi descrisse un quadro di linfadenite iperplastica reticolocellulare a carattere focale, con decorso benigno e localizzata nei linfonodi cervicali. Altri AA. si sono occupati del problema e sono state proposte varie denominazioni, tra cui «linfoadenite necrotizzante» (Wakasa *et al.*, 1978), «linfoadenite istiocitica necrotizzante» (Shimamine *et al.*, 1974) e «iperplasia pseudolinfomatosa» (Michaeleck *et al.*, 1977).

Questa affezione è caratterizzata da una lesione pseudolinfomatosa autolimitante che tende a manifestarsi nei giovani, prevalentemente di sesso femminile. Il carattere di processo a evoluzione necrotizzante è comunque presente in tutte le descrizioni e vari casi sono stati riportati al di fuori del Giappone, a partire dalla prima segnalazione di Kikuchi. Sebbene i linfonodi colpiti siano, nella maggior parte dei pazienti, quelli laterocervicali (mono- o bilateralmente), tutte le sedi possono essere interessate; inoltre, benché non siano stati ancora identificati gli agenti etiologici di tale linfoadenite, la *Yersinia enterocolitica* e il virus di Epstein-Barr sembrano avere un qualche maggior ruolo per gli elevati titoli anticorpali che sono stati dimostrati in un certo numero di casi.

Il decorso clinico è caratterizzato da febbre (che in molti pazienti può non essere presente), da incremento della velocità di sedimentazione, da una modesta linfocitopenia. La malattia si protrae in media per uno, due mesi e può dar luogo primitivamente al sospetto di un quadro linfoproliferativo simil-linfomatoso. Ha una prognosi benigna e un decorso autolimitantesi. L'analisi morfologica dei linfonodi colpiti evidenzia una distribuzione multifocale di infiltrati di macrofagi, piccoli linfociti e immunoblasti nella corteccia e nella paracorticale. Sono anche presenti cellule definite *plasmocytoid T cells*. Caratteristico è l'associarsi di zone che mostrano una necrosi parziale con altre con più marcati segni di necrosi coagulativa e fenomeni picnotici. Frequenti



Digitized by Google

sono i segni di proliferazione con presenza di cellule T attivate e istiociti.

L'uso di anticorpi monoclonali associato a tecniche istochimiche ha permesso un discreto approfondimento sulla genesi della linfoadenite di Kikuchi, e in particolare sul ruolo delle cellule così dette plasmocitoidi. Secondo alcuni AA. si tratterebbe di elementi a derivazione T, mentre studi più recenti non hanno confermato appieno tale ipotesi.

La segnalazione di un quadro istiocitico necrotizzante associato a un istiocitoma fibroso maligno evidenzia la natura polivalente della linfoadenite descritta da Kikuchi, che allo stato delle conoscenze sembra causata non da un singolo agente ma da molteplici stimoli. Come già detto la sede usuale dell'affezione sono i linfonodi laterocervicali, anche se sono stati descritti casi di coinvolgimento di altre sedi (ad es. mediastinica). Inoltre, poiché il sintomo accusato dal paziente è talvolta soltanto la febbre, la linfoadenite di Kikuchi può essere considerata tra le possibili cause di febbri a etiologia sconosciuta.

**Bibliografia**

Chan J. K. C., Saw D., *Pathology*, 1986, **18**, 22.
Chan J. K. C., Ng C. S., *Pathology*, 1987, **19**, 104.
Feller A. C., Lennert K., Stein H. *et al.*, *Histopathology*, 1983, **7**, 825.
Kikuchi M., *Nippon Ketsueki Gakkai Zasshi*, 1972, **35**, 379.
Michaeleck H., *Trans. Soc. Pathol. Jpn.*, 1977, **66**, 209.
Pearl D., Strauchen J. A., *N. Engl. J. Med.*, 1989, **320**, 1147.
Rivano M. T., Falini B., Stein H. *et al.*, *Histopathology*, 1987, **11**, 1013.
Shimamine T., Mori S., Itoyama S., *Nippon Rinsho*, 1974, **32**, 1197.
Wakasa H., Takahashi H., Kimura N., *Recent Adv. Res.*, 1978, **18**, 85.

GIUSEPPE LUZI

## KINGELLA GENERE

Questo genere di batteri di recente individuazione comprende microrganismi a struttura bastoncellare, non mobili, di circa 2-3 μm di lunghezza e 1 μm di diametro, che si presentano spesso aggregati in coppie o in piccole catene. I microrganismi del genere *Kingella* risultano essere gram-negativi e crescono bene nei comuni terreni per coltura batterica in condizioni di aerobiosi, anche se, seppure con una velocità di crescita sensibilmente ridotta, producono colonie anche in condizioni di anaerobiosi. Sono germi catalasi-positivi che fermentano il glicoso e altri carboidrati producendo acidi e non gas.

I microrganismi del g. *K.* furono inzialmente inseriti nel genere *Moraxella* (v. MORAXELLA GENERE) tant'è che *K. kingae* era stata originariamente denominata da Henriksen e Bovre (1968) come *M. kingae*. Successivamente (1974) furono gli stessi AA. a creare il nuovo g. *K.* sulle basi di alcune differenze che avevano individuato tra i microrganismi isolati e quelli appartenenti al genere *Moraxella*; in pratica, oltre alla mancanza della catalasi, la mancanza di una reale affinità genomica tra i due generi, così come dimostrato dagli studi di ibridazione degli acidi nucleici. Per contro microrganismi del g. *K.* presenterebbero una lontana affinità con il genere *Neisseria* per quanto riguarda l'entità del rapporto molare percentuale G+C del DNA.

Tre sarebbero fino ad ora le specie attribuite a questo genere e più specificamente *K. kingae*, *K. indologenes* e *K. denitrificans* che si distinguerebbero tra di loro per alcune caratteristiche metaboliche (tab. I).

Questi microrganismi fanno parte della normale flora delle vie respiratorie superiori dell'uomo e stanno acquisendo importanza in patologia umana quali agenti etiologici di endocarditi a decorso complicato; in quasi il 50% di quelle finora descritte è stata riportata anche l'insorgenza di trombosi che in un 25% dei casi era a sede cerebrale. In corso di sepsi, sostenute da microrganismi di questo genere, sarebbe comune anche l'insorgenza di manifestazioni emorragiche a sede cutanea. In particolare *K. kingae* è stato spesso isolato in corso di artriti settiche e osteomieliti del bambino, mentre *K. indologenes* è stato identificato quale agente etiologico di ascessi corneali e congiuntiviti angolari. *K. denitrificans* fu isolato per la prima volta da tamponi faringei inoculati in mezzo di coltura di Thayer-Martin al fine di identificare ceppi di meningococchi, nel corso di uno studio volto all'individuazione di portatori sani di *N. meningitidis*. Successivamente questo microrganismo è stato isolato anche in casi di endocardite.

**TAB. I. CARATTERISTICHE DIFFERENZIALI DELLE DIVERSE SPECIE DI *KINGELLA***
(da *Bergey's Manual*, 1984)

| | *K. kingae* | *K. indologenes* | *K. denitrificans* |
|---|---|---|---|
| beta-emolisi | + | − | − |
| crescita in presenza di NaCl 4% | − | + | − |
| riduzione dei nitrati | − | − | + |
| riduzione dei nitriti | − | − | + |
| produzione di gas dai nitriti | − | − | + |
| digestione della caseina | + | + | − |
| attività fosfatasica | + | + | − |
| produzione di indolo | − | + | − |
| idrolisi del Tween 40 | − | + | + |

Per quanto riguarda la sensibilità agli antibiotici tutti i microrganismi del g. *K.* finora identificati si sono dimostrati sensibili alla penicillina, all'eritrocina, alle tetracicline, al cloramfenicolo e alla streptomicina.

**Bibliografia**

Krieg N. R. ed., *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 1984, Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 307-309.
Mandell G. L., Douglas R. G., Bennett J. E., *Principles and Practice of Infectious Disease*, 3ª ed., 1990, Churchill Livingstone, New York.

LOREDANA SARMATI

## KLEINE-LEVIN, SINDROME DI: v. SONNO (XIV, 558).

## KNIEST, DISPLASIA DI

F. *maladie de Kniest.* - I. *Kniest dysplasia.* - T. *Kniest Dysplasie.* - S. *displasia de Kniest.*

Sindrome estremamente rara, la cui frequenza è inferiore a 0,1 per milione, caratterizzata da bassa statura, testa larga, *facies* appiattita e rotondeggiante, micrognazia, collo corto e infossato nelle spalle, tronco corto con aumento del diametro anteroposteriore, cifosi dorsale, sterno protruso, arti corti, articolazioni prominenti e allargate, ernie inguinali e addominali. Occasionalmente sono stati riportati anche sordità, miopia, distacco della retina, cataratta e piedi torti. I pazienti, di solito con quoziente intellettivo normale, non camminano prima dei 2-3 anni di età e la loro statura finale varia tra i 105 e i 145 cm.

La malattia è dovuta a una mutazione genica dominante e recente, che, stando almeno alla ipotesi più probabile, determinerebbe difetti nella secrezione del procollagene



Digitized by Google

tipo II con carenza di C-propeptide che, a sua volta, causerebbe la formazione di fibrille sottili e di forma irregolare.

Sul piano anatomopatologico è caratteristico l'aspetto «a bolle» o «a formaggio svizzero» del tessuto cartilagineo.

Gli esami radiologici mettono in rilievo nelle ossa lunghe tipiche alterazioni ossee consistenti in diafisi estremamente corte, metafisi allargate «a batacchio di campana» ed epifisi deformate. Si hanno inoltre corpi vertebrali appiattiti e a forma di cuneo o di trapezio, cifosi dorsali, lordosi e/o scoliosi lombare, torace a campana, clavicole corte, ali iliache piccole e altre alterazioni.

Le complicazioni più frequenti sono otiti ricorrenti, sordità, miopia e distacco della retina.

La terapia mira esclusivamente al controllo dei sintomi e alla prevenzione dei problemi oculari e dell'artrosi che può insorgere precocemente.

**Bibliografia**

Burton B. K., Summer T., Langer L. O. *et al.*, *J. Pediatr.*, 1986, **109**, 642.
Mastroiacovo P., Dallapiccola B., Andria G. *et al.*, *Difetti congeniti e sindromi malformative*, 1990, McGraw-Hill Libri Italia, Milano.
Poole A. R., Pidoux I., Reiner A. *et al.*, *J. Clin. Invest.*, 1988, **81**, 579.
Sconyers S. M., Rimoin D. L., Lachman R. S., *J. Pediatr.*, 1983, **103**, 898.

STEFANO CAGLIANO



Digitized by Google

# L

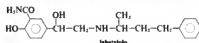
## LABETALOLO

F. *labétalol.* - I. *labetalol.* - T. *Labetalol.* - S. *labetalol.*

Il labetalolo (Trandate®) è un farmaco molto interessante capostipite di una categoria attualmente in fase di studio, ehe presenta peculiari caratteristiche: esso infatti è dotato di proprietà antagoniste dei recettori alfa- e beta-adrenergici e possiede altresì una attività vasodilatante diretta.

$H_2NCO$ OH $CH_3$

HO–$C_6H_3$–CH–$CH_2$–NH–CH–$CH_2$–$CH_2$–$C_6H_5$

**labetalolo**

Queste caratteristiehe, sul piano teorico, ne indicano il potenziale impiego nell'ipertensione arteriosa sistemica, accanto ai farmaci betabloccanti «puri», con il vantaggio, rispetto a quest'ultimi, di determinare una vasodilatazione periferica. V. anche: IPOTENSIVE SOSTANZE*.

### Farmacodinamica

Come è stato dimostrato *in vivo* negli studi sull'animale e nell'uomo il l. è in grado di bloccare i recettori beta-adrenergici in modo non selettivo; il farmaco agisce inoltre bloccando i recettori alfa-1 e non gli alfa-2. Nell'animale il farmaco è in grado di antagonizzare gli effetti prodotti dalla stimolazione simpatica o dalla somministrazione di amine simpaticomimetiche. La capacità di blocco beta-adrenergico è circa 3 volte superiore a quella di blocco alfa-adrenergico. Il l. si è dimostrato dalle 6 alle 10 volte più potente della fentolamina sul recettore alfa e da 1,5 a 4 volte più potente del propranololo sul recettore beta: esso non presenta un effetto simpaticomimetico intrinseco e ha una azione di tipo non cardioselettivo.

Il l. determina una riduzione dei valori pressori sistodiastolici nel soggetto sano e, in misura maggiore (attorno al 20%), nel paziente iperteso dopo somministrazione acuta e. v. La frequenza cardiaca rimane pressoché immodificata, mentre si assiste a una riduzione dell'indice cardiaco e delle resistenze periferiche totali. La riduzione pressoria è di grado maggiore se valutata in ortostatismo, mentre la frequenza cardiaca rimane immodificata. L'azione di blocco beta-adrenergico del l. è responsabile di un effetto inotropo negativo la cui rilevanza non è sottovalutabile nella pratica clinica. Gli effetti emodinamici del l. sono stati valutati anche durante l'esecuzione di uno sforzo isometrico o isotonico dove si ha una riduzione dei valori pressori e della frequenza cardiaca del 15-20% circa. I benefici effetti emodinamici ottenuti dal l. negli ipertesi paiono confermati anehe nei pazienti con cardiopatia ischemica e in quelli con infarto miocardico acuto. In questi pazienti è stato osservato anche un miglioramento del flusso coronarico secondario a una riduzione delle resistenze.

Le modificazioni emodinamiehe registrate in acuto risultano di minore entità dopo somministrazione cronica. Assai interessante è la capacità del l. di aumentare il flusso ematico renale a riposo senza variazioni della velocità di filtrazione glomerulare e con riduzione delle resistenze vascolari renali. Tali effetti sono evidenti in acuto, in cronico e anche durante esercizio fisico.

### Farmacocinetica

La farmacocinetica del l., estesamente studiata sia nella sua somministrazione acuta che cronica, è particolarmente complessa e variabile. Il farmaco, nella sua preparazione orale, viene rapidamente assorbito raggiungendo il picco di concentrazione plasmatica dopo 1-2 h, ma il suo assorbimento viene notevolmente influenzato e allungato dalla presenza di cibo oel tratto intestinale. La sua biodisponibilità è assai variabile (fino a 8 volte da un soggetto a un altro) ed è anch'essa influenzata dalla presenza di cibo e dall'età del soggetto (maggiore negli anziani).

Il l. è legato per circa il 50% alle proteine plasmatiche e viene estesamente biotrasformato nel fegato, mentre solamente il 5% viene eliminato immodificato nelle urine. Il suo tempo di dimezzamento varia dalle 3 alle 8 h indipendentemente dalla via di somministrazione (orale o e. v.) e dalla condizione clinica del soggetto (iperteso o normoteso); può essere ulteriormente allungato nel soggetto anziano.

Il metabolismo del l. presenta un importantissimo effetto di primo passaggio epatico, per cui la sua eliminazione risulta notevolmente influenzata da eventuali alterazioni della funzionalità e del flusso epatico. La sua eliminazione avviene attraverso le feci e le urine.

L'insieme di questi dati giustifica la non perfetta conoscenza delle dosi ottimali e la scarsa diffusione clinica del farmaco. Esiste





Digitized by Google

tuttavia una formulazione *retard* con probabile migliore farmacocinetica che ha potenziali futuri effetti favorevoli.

**Indicazioni terapeutiche**

Il campo terapeutico nel quale sono stati effettuati, al momento, un maggior numero di studi con il l., è stato sicuramente quello dell'ipertensione arteriosa primaria e secondaria. Sebbene non esistano attualmente estesi studi comparativi con altri farmaci, i dati ora disponibili suggerirebbero un effetto antipertensivo del farmaco sovrapponibile a quello ottenuto con preparati puramente betabloccanti (propranololo), o esclusivamente alfabloccanti (prazosina) o calcioantagonisti (nifedipina e verapamil) e bloccanti centrali (clonidina e metildopa). Purtroppo la difficoltà di indicare i dosaggi standard ha reso difficoltoso un uso estensivo del farmaco.

Il l., da solo o in combinazione con diuretici, ha dimostrato la capacità di ridurre la pressione arteriosa nel 65% dei pazienti con ipertensione di grado moderato severo.

Nelle emergenze ipertensive il l. somministrato per via e. v., sia con boli ripetuti che con infusione continua, riduce rapidamente la pressione arteriosa (5-30 min) nel 70-95% dei pazienti con un effetto di durata variabile da 1 a 24 h. Esso pertanto risulta efficace nel trattamento delle crisi ipertensive in generale e in alcune situazioni cliniche rappresentate dall'ipertensione in gravidanza, dove è in grado di effettuare un buon controllo dei valori pressori senza effetti collaterali sul circolo placentare e sul feto, e dalle crisi ipertensive secondarie a feocromocitoma o a sospensione della clonidina (v. IPERTENSIONE ARTERIOSA*).

Alcuni studi assai recenti hanno posto l'attenzione anche sul possibile utilizzo del l. nella cardiopatia ischemica associata o meno a ipertensione arteriosa. I dati in proposito, pur ancora preliminari, paiono assai incoraggianti in quanto viene segnalata una riduzione del numero degli attacchi anginosi, del consumo di nitroglicerina sublinguale e un aumento di durata dell'esercizio.

**Posologia**

Il dosaggio del l., peraltro assai variabile, deve essere titolato in base alla risposta individuale. La dose iniziale, raccomandata nei pazienti adulti con ipertensione di grado lieve-moderato, è di 100 mg due volte al giorno preferibilmente dopo i pasti. Essa può essere aumentata progressivamente ogni 2-3 giorni di 100 mg fino al raggiungimento della dose abituale di mantenimento di 200-400 mg due volte al giorno. I pazienti con forme severe e resistenti di ipertensione arteriosa possono richiedere fino a 2400 mg al giorno di l. suddivisi in 3 somministrazioni, mentre i pazienti più anziani devono iniziare il trattamento con dosaggi assai ridotti (50 mg due volte al giorno).

Nel trattamento delle crisi ipertensive nei pazienti ospedalizzati è possibile effettuare una somministrazione con boli ripetuti o con infusione continua lenta. Il bolo iniziale deve essere di 20 mg in 2 min e può essere ripetuto ogni 10 min fino al raggiungimento di una dose totale di 300 mg o al controllo dei valori pressori.

Nel caso venga somministrato con infusione continua, questa deve essere preparata miscelando pari quantità di l. e di soluzione fisiologica e infondendo inizialmente alla velocità di 20 mg/h raddoppiando la dose ogni 30 min fino al raggiungimento di una risposta pressoria soddisfacente o di una dose totale di 160 mg/h. Nelle crisi ipertensive complicanti l'infarto miocardico acuto la dose iniziale è di 15 mg/h fino a un massimo di 120 mg/h.

Gli effetti indesiderati più frequenti del l. sono secondari al trattamento *per os* e sono rappresentati dal prurito al cuoio capelluto, dall'astenia, dalle vertigini posturali e, in alcuni casi, dall'ipotensione ortostatica che va sempre ricercata nei pazienti in trattamento cronico.

**Bibliografia**


Abernethy D. R., Bartos P., Plachetka J. R., *J. Clin. Pharmacol.*, 1987, **27**, 902.
Arinsoy T., Oram E., *Curr. Ther. Res.*, 1986, **40**, 1123.
Cantelli I., Bracchetti D., *Curr. Ther. Res.*, 1981, **30**, 1043.
Crake T., Mulcahy D., Wright C., Fox K., *Eur. Heart J.*, 1988, **9**, 1200.
Cressman M. D., Vidt D. G., Gifford R. W. jr. *et al.*, *Am. Heart J.*, 1984, **107**, 980.
Goa K. L., Benfield P., Sorkin E. M., *Drugs*, 1989, **37**, 583.


DANIELE BRACCHETTI E GIANNI CASELLA

**LAMB, SINDROME**: v. CARDIOCHIRURGIA*, *tumori cardiaci*.

**LAMBERT-EATON, SINDROME DI**: v. MIASTENICHE SINDROMI*.

**LAMININA**: v. MATRICE EXTRACELLULARE*.

**LANGHERANS, GRANULOMATOSI A CELLULE DI**: v. ISTIOCITOSI X*.

## LAPAROCELE [v. vol. VIII, col. 976]

SOMMARIO



**Incidenza**

L'incidenza con cui il laparocele (o ernia postlaparotomica) complica una laparotomia, per quanto di difficile valutazione, sembra variare, secondo stime recenti, dall'1 all'8%. In caso di infezione della ferita, la percentuale sale al 2-16%. Il 75% dei l. si sviluppa entro il primo anno dalla laparotomia e oltre il 50% prima del 6° mese.

**Etiopatogenesi**

Allo sviluppo del l. concorrono fattori di ordine sia locale che generale.

Tra i *fattori generali* si colloca al primo posto l'obesità, che oltre a comportare un aumento della pressione endoaddominale e associarsi a turbe cardiorespiratorie, facilita l'infezione della ferita. Influiscono inoltre l'età (i decenni più colpiti sono il 6° e il 7°), le malattie con deplezione del patrimonio proteico, quali cirrosi, cancro, denutrizione, e il diabete. Il sesso prediletto è quello femminile, nel quale la pluriparità è una costante. Problemi inerenti al decorso postoperatorio, quali tosse, meteorismo, vomito e altre condizioni che comportino un aumento della pressione addominale, costituiscono ulteriori fattori favorenti.

Tra i *fattori locali* hanno un ruolo importante la *sede* dell'incisione laparotomica e il *tipo di sutura*. Le incisioni mediane, e particolarmente quelle ipogastriche (rispetto alle epigastriche), sono quelle maggiormente a rischio, seguite dalle pararettali e dalle incisioni secondo Mc Burney; le meno esposte in assoluto sono le lombotomie e, comunque, le incisioni trasversali. A parte gli errori tecnici, quali il misconoscimento di piani aponeurotici, il posizionamento di punti ischemizzanti (troppo fitti o legati in eccessiva tra-





Digitized by Google

zione) e la sezione di tronchi nervosi con conseguente ipotrofia muscolare, incidono in maniera rilevante l'intolleranza ai materiali di sutura e soprattutto le complicanze settiche della ferita. Sono considerati condizioni favorenti anche i drenaggi posizionati attraverso la sutura e la migrazione transparietale dell'omento nella fase di rimozione dei drenaggi addominali.

Il *volume* dell'ernia postlaparotomica, in base al quale si distinguono l. «grandi» e «piccoli», è variabile e può raggiungere dimensioni tali per cui gli organi erniati perdono il «diritto di domicilio» in addome. La porta attraverso cui si verifica il l. non sempre è unica, dato che talora orifizi multipli si aprono tra le smagliature della sutura laparotomica. Il *sacco* che avvolge i visceri addominali erniati è costituito da peritoneo, generalmente ispessito da fatti flogistici o da residui della *fascia trasversalis*: esso è spesso plurilobato e può contrarre aderenze strette con la cute (che può anche ulcerarsi con il meccanismo del decubito) o col piano muscolo-aponeurotico su cui tende ad adagiarsi assumendo una grossolana forma «a fungo».

Il *contenuto* del l. è generalmente costituito da un conglomerato omentale sclerotico e/o da anse intestinali; più raramente da vescica ed annessi.

**Sintomatologia e diagnosi**

La comparsa del l. può essere improvvisa, in rapporto ad uno sforzo o ad altri eventi che comportino un aumento della pressione endoaddominale (tosse, starnuto, etc.) con dolore e successiva protrusione, in sede di ferita, di una massa sottocutanea più o meno voluminosa. Più frequentemente però la comparsa di una tumefazione espansibile con la tosse facilmente riducibile con gorgoglio e associata a senso di peso e dolenzia è progressiva. Col tempo essa può divenire irriducibile per fatti aderenziali, per intasamento o per perdita di «diritto di domicilio».

Nel corso dell'esame obiettivo di un l. è importante la valutazione della porta erniaria, che si effettua facendo contrarre i muscoli addominali a paziente supino, in modo da percepirne con sicurezza il margine; la valutazione palpatoria si completa nella successiva fase di riduzione.

Tra le complicanze del l. sono da ricordare la irriducibilità, l'incarceramento dovuto ad aderenze dei visceri con il sacco, l'intasamento, lo strozzamento e, infine, l'occlusione intestinale per torsione o conglutinazione delle anse. Le complicanze possono anche riguardare solo la cute, che può essere macerata o ulcerata soprattutto quando esposta a traumi da cinto.

**Fisiopatologia**

I l. vengono distinti oltre che in rapporto alla sede e alle dimensioni, anche in rapporto alla mobilità del contenuto. Sono detti infatti liberi o fissi, a seconda che il contenuto, libero da connessioni con il sacco, passi, durante gli atti respiratori, dalla cavità addominale al «nuovo addome» e viceversa ovvero resti costantemente confinato all'esterno.

Tale distinzione ha delle basi fisiopatologiche che è utile ricordare anche per le ripercussioni che i l. determinano sui vari apparati, tanto che si parla anche di laparocele-malattia con interessamento respiratorio, vascolare, viscerale.

Va ricordato, in proposito, che il tono della parete addominale è determinato dal gioco di coppia che i muscoli in essa contenuti svolgono grazie all'orientamento delle loro fibre e che normalmente esiste un equilibrio funzionale tra i muscoli della parete addominale e il diaframma. I muscoli addominali si inseriscono in alto sul torace, in basso sul bacino, posteriormente sulla colonna vertebrale e anteriormente sulla linea alba, che funge da tendine mediano comune. I retti, definiti anche pilastri anteriori della parete addominale, si contrappongono al trasverso e gli obliqui interni agli esterni. Durante l'inspirazione, la contrazione globale dei muscoli addominali, analogamente ad una cintura, aumenta la pressione addominale e immobilizza il centro frenico, sospingendoli contro gli organi endoaddominali. Viene così consentita la contrazione della componente muscolare del diaframma che, appiattendosi, mobilizza le ultime 6 coste e quindi aumenta i diametri toracici trasversale e sagittale.

Nei l. voluminosi, soprattutto mediani e sottombelicali, durante l'inspirazione i visceri vengono sospinti nel sacco, sottraendo al centro frenico il punto di appoggio. Alla fine dell'espirazione, che non è più un semplice atto passivo, gli organi, che sono rientrati nell'addome nella prima fase dell'espirazione, vengono nuovamente sospinti nella neocavità. Si instaura così un ritmo respiratorio a 4 tempi, definito anche *volet* addominale, con un quadro di insufficienza ventilatoria per certi aspetti analogo a quello che caratterizza l'enfisema polmonare. Nei l. fissi il contenuto è costantemente dislocato all'esterno e lo squilibrio della coppia diaframma-muscoli addominali non ha grosse ripercussioni sulla funzionalità respiratoria. In questi l. vengono invece a determinarsi problemi di insufficienza respiratoria acuta nel caso di riduzione forzata dei visceri al momento della ricostruzione plastica della parete: un aumento brusco della pressione addominale solleva infatti il diaframma a scapito dello spazio disponibile per le basi polmonari.

Nella malattia-laparocele oltre a turbe respiratorie si istituiscono turbe circolatorie con complicanze postoperatorie tromboemboliche, ad evoluzione talora infausta. Alla base di queste è la stasi venosa nel distretto cavale inferiore e nel territorio splancnico che si instaura per l'inefficienza della pompa diaframmatica.

L'aspetto viscerale della malattia è infine caratterizzato da una dilatazione atonica degli organi cavi, il cui tono e trofismo sono correlati con il tono della muscolatura addominale. Dolori di tipo colico, stipsi, fenomeni subocclusivi, disuria sono le più frequenti conseguenze cliniche.

**Trattamento**

Il trattamento del l. è essenzialmente chirurgico; solo gravi ragioni di ordine generale o l'eccessivo volume del l. stesso possono controindicare l'intervento. In questi casi, i cinti contentivi costituiscono la sola, peraltro del tutto inadeguata, alternativa.

*Preparazione all'intervento*

Tranne che nei piccoli l., l'intervento richiede un'adeguata preparazione preoperatoria. Il concetto infatti che il l. non è solo un problema di ricostruzione plastica, implica uno specifico approccio, rivolto alla correzione dell'obesità, dell'insufficienza respiratoria cronica, della stasi venosa sottodiaframmatica, delle alterazioni trofiche cutanee. Al fine di agevolare la plastica, di ridurre le complicanze postoperatorie e le recidive, il trattamento dietetico, la kinesiterapia respiratoria, la preparazione cutanea, sono provvedimenti obbligatori ma complementari di una specifica metodica, il *pneumoperitoneo progressivo*, il cui obiettivo è il ripristino della pressione endoaddominale. Tale metodo consiste nel rifornimento endoaddominale, attraverso un agocatetere lasciato a dimora in fossa iliaca sinistra, di quantità progressive (da 500 a 3000 ml per volta, per un totale di 25-35 l) di un gas inerte (protossido di azoto) in sedute distribuite in un arco di tempo di 2-3 settimane.

Il pneumoperitoneo tende progressivamente a ristabilire un grado di pressione endoaddominale che consenta il normale funzionamento del diaframma e il gioco di coppia dei muscoli della parete addominale. In tal modo, oltre a in-







Digitized by Google

fluire favorevolmente sulla funzione respiratoria, di cui l'aumento della capacità vitale è un indice obiettivo, migliora il ritorno venoso sottodiaframmatico e risolve anche il problema delle lesioni trofiche cutanee. Il progressivo aumento di pressione addominale risolve anche in buona parte la contrattura da disinserzione in cui si trovano abitualmente i muscoli addominali cui è venuto a mancare il tendine centrale comune. Tale effetto può essere valutato con la palpazione, che evidenzia quello che è stato definito «il rammollimento del fianco». Il pneumoperitoneo progressivo offre vantaggi anche al momento della ricostruzione plastica, poiché l'insufflazione endocavitaria aumenta la capacità addominale sollevando il diaframma, abbassando il pavimento pelvico e, come abbiamo visto, riducendo la contrattura dei muscoli addominali, analogamente a quanto avviene in gravidanza o nell'ascite. Sono così più frequentemente possibili plastiche dirette, con minor rischio di recidiva e limitazioni nell'impiego delle protesi. Grazie al pneumoperitoneo progressivo si ristabilisce il tono parietale degli organi cavi, di cui si riduce il volume, con effetti positivi sul ripristino della canalizzazione postoperatoria, aspetto non trascurabile ai fini della tenuta della plastica.

*Principi di tecnica operatoria*

L'intervento di plastica consiste nel chiudere la breccia erniaria (accuratamente individuata dopo completo isolamento del sacco) con tecnica diretta o indiretta (uso di materiale protesico).

Tra le *plastiche dirette*, la tecnica «per accostamento» è indicata nei l. piccoli e non recidivi. Il sacco e il colletto vengono recentati e lo strato profondo della sutura, in materiale riassorbibile, comprende peritoneo e, in alcuni casi e in rapporto alla sede, gli strati muscolofasciali profondi. La chiusura del successivo piano muscoloaponeurotico, che si effettua a punti staccati e non riassorbibili, non deve comportare eccessive trazioni. Per l. più voluminosi o in presenza di flogosi, evento che vieta l'uso di materiale protesico, resta ancora valida la variante di plastica diretta «a panciotto» o «a paletot», secondo Judd. La sovrapposizione dei lembi aponeurotici è assicurata in questo caso da un ancoraggio con punti a U nel piano profondo e da un accostamento semplice in quello superficiale.

Alle *plastiche indirette* si ricorre nelle ampie perdite di sostanza, in cui l'uso dei materiali protesici, rispettivamente con funzione di rinforzo o di rimpiazzo della parete, agevola o consente la riparazione. Il «tulle» di Dacron®, materiale eterologo favorevole per resistenza, tollerabilità biologica, permeabilità, incorporamento, costituisce il materiale di più diffuso impiego e oggigiorno ha sostituito le protesi autologhe con fascia lata, derma, cute. Di recente è stato anche introdotto il PTFE, materiale che presenta superiore grado di incorporamento, il cui uso è peraltro ancora oggetto di discussione. Il piano utilizzato per apporre la protesi è quello preperitoneale retromuscolare, posizione che riduce sia i rischi di infezione a cui espone la collocazione sottocutanea, sia quelli di reazione flogistica con conseguenti aderenze dei visceri che la sede intraperitoneale può indurre anche se in grado diverso a seconda del materiale usato. La protesi, che deve ampiamente debordare dal margine muscolo-aponeurotico per garantire una più equilibrata distribuzione della pressione endoaddominale, viene ancorata, in lieve tensione al fine di evitare le pieghe, con alcuni punti a U traversanti gli strati muscolari superiori. Quando viene utilizzata a scopo di rinforzo, cioè per evitare la tensione lungo la linea di sutura, i margini muscolo-aponeurotici vengono chiusi al davanti di essa. Nel caso in cui alla protesi venga affidata una funzione sostitutiva, i margini della breccia verranno ancorati sulla faccia anteriore della protesi stessa che quindi risulterà esposta nel tessuto sottocutaneo.

La corretta utilizzazione delle varie metodiche in rapporto alle singole indicazioni ha permesso in questi ultimi anni una drastica riduzione delle recidive di l. che nell'esperienza di chi scrive è del 5,5%.

**Bibliografia**

Akman P. C., *J. Int Coll. Surg.*, 1962, **37**, 125.
Anson Mc Vay, *Surgical Anatomy*, 1971, Saunders, Philadelphia.
Champetier J., Laborde Ch., Letoublon C., Durand A., *J. Chir. (Paris)*, 1978, **115** (11), 585-590
Connolly D. P., *JAMA*, 1969, **209**, 71.
Cuberlafond P., Sava P., Gainant A., Ugazzi M., *Chirurgie*, 1989, **115**, 66-71.
Dayton Merril T., Buchele Brentley A., Shirazi Siroos S., Huntlyle B., *Arch. Surg.*, 1986, **121**.
Goligher J. C., Irvin T. T., Johnston D. *et al.*, *Br. J. Surg.*, 1975, **62**, 823.
Goni Moreno Y., *Chirurgie*, 1970, **96**, 581.
Lichtenstein J., Herzikoff S., Shore J. M. *et al.*, *Surg. Gynecol. Obstet.*, 1970, **130**, 685.
Maffei Faccioli A., *Atti Soc. Ital. Chirurgia*, 1980, p. 1106.
Neidhart J. H., *Comptes rendus du 75ème Congrès Français de Chirurgie*, 1974, Masson, Paris.
Nocentini P., *Atti Soc. Ital. Chirurgia*, 1980, p. 1119.
Pelizzo M. R., Toniato A., Caldironi M. W. *et al.*, *Minerva Chirur.*, 1987, **42** (17), 1295-1299.
Read Raymond C., Gordon Y., *Arch. Surg.*, 1989, **124**, 485-488.
Rives J., *Chirurgie*, 1973, **99**, 547.
Rives J., *Comptes rendus du 75ème Congrès Français de Chirurgie*, 1974, Masson, Paris.
Romeo G., Catania G., Basile F. *et al.*, *Atti Soc. Ital. Chirurgia*, 1988, p. 221.
Rossi R., Trivellini G., Danelli P. G., *Atti Soc. Ital. Chirurgia*, 1988, p. 295.
Stoppa R., Henry X., Canarelli J. P., *Chirurgie*, 1979, **105**, 276-286.
Stuart A. E., Smith A. N., Samuel E., *Applied Surgical Pathology*, 1976, Blackwell, Oxford.
Vandervael F., *Analyse des Mouvements du Corp Humain*, 1964, Maloine, Paris et Desoer, Liège.
Winfield R., *Gynecol. Obstet.*, 1985, **161** (4), 367.

ALVISE MAFFEI FACCIOLI E MARIA ROSA PELIZZO

## LAPAROSCOPIA [v. vol. VIII, col. 984]

**Laparoscopia in età pediatrica**

L'impiego della laparoscopia nell'infanzia è rimasto virtualmente sconosciuto sino agli anni '70 quando ad opera di AA. nordamericani ne vennero riportate metodica, indicazioni e risultati in un gruppo di 16 pazienti (Gans e Berci, 1973), il che coincideva con la disponibilità di una strumentazione miniaturizzata di facile impiego ed idonea anche per i lattanti ed i neonati.

Va peraltro sottolineato che AA. italiani avevano in precedenza pubblicato la loro positiva esperienza in pazienti pediatrici servendosi della medesima strumentazione utilizzata negli adulti (Cortesi *et al.*, 1969). Negli anni '80 sono poi comparsi numerosi nuovi contributi e l'importanza di questa indagine si è definitivamente affermata anche nel bambino (Gans, 1983).

*Tecnica*

Dal punto di vista tecnico, rispetto alla indagine eseguita nell'adulto, due sono le differenze sostanziali (Esposito e Porreca, 1986): la prima, già accennata, consiste nell'impiego di una strumentazione di dimensioni ridotte al fine di minimizzare il trauma della parete, soprattutto in pazienti di pochi mesi. A tal uopo viene impiegato un trequarti con cannula da 4,5 mm e, naturalmente, ottiche di diametro compatibile.

La seconda differenza importante è che la l. viene effettuata in narcosi con intubazione orotracheale. Ciò è neces-





Digitized by Google

sario sia per la mancanza di collaborazione del paziente pediatrico, sia per controllare adeguatamente la dinamica respiratoria che viene ad essere ostacolata dal pneumoperitoneo.

Oltre ciò la tecnica della l. nel bambino non presenta altre rimarchevoli differenze, prevedendo quindi tempi analoghi a quelli dell'adulto: puntura della parete con ago di Verres, esecuzione del pneumoperitoneo, introduzione del trequarti, introduzione dell'ottica ed esplorazione endoscopica.

Particolare cura andrà posta nei tempi «ciechi»: introduzione dell'ago di Verres ed introduzione del trequarti. Soprattutto nel bambino più piccolo la distanza tra parete anteriore e parete posteriore dell'addome, con tutte le strutture vascolari importanti che vi sono contenute (aorta, vena cava, vasi iliaci), è di pochi centimetri, e pertanto, oltre a rispettare scrupolosamente i punti di ingresso più sicuri (zona periombelicale, punto di McBurney sinistro, etc.) si dovrà badare a non affondare eccessivamente l'ago ed il trequarti. Per analoghe considerazioni il pneumoperitoneo dovrà essere perfettamente eseguito. La parete addominale del piccolo paziente in narcosi può deprimersi facilmente nel momento della introduzione del trequarti se la cute e la fascia sottostante non sono state previamente incise con un bisturi e se essa non è ben tesa dalla camera di gas sottostante. A tal fine durante il tempo della introduzione del trequarti la pressione intraddominale dovrà essere mantenuta intorno ai 20 mmHg, per poi venire ridotta a circa 15 mmHg durante l'esplorazione endoscopica. Il gas da preferirsi è il protossido di azoto per la minore incidenza di dolore nel decorso successivo.

Qualora l'induzione dell'anestesia sia avvenuta per via inalatoria, è possibile che lo stomaco, dilatato dai gas somministrati, ostacoli l'indagine endoscopica; sarà necessario in questi casi che l'anestesista introduca un sondino nasogastrico limitatamente al tempo necessario per vuotare lo stomaco.

*Indicazioni*

Le indicazioni alla l. nell'infanzia devono tener conto della relativa invasività dell'indagine, nonché della necessità di effettuare l'esame in narcosi. Va peraltro ricordato che nei piccoli pazienti anche le modernissime metodiche di indagine per immagine (TC, RMN) richiedono prolungate narcosi. In linea generale vi si ricorre quando le indagini meno invasive non sono riuscite a fornire un completo orientamento diagnostico.

Le più importanti ed accreditate indicazioni sono le seguenti.

*Patologia epato-biliare.* — I vantaggi della biopsia epatica sotto controllo laparoscopico sono tanto noti da non richiedere ulteriori precisazioni. Tra le varie indicazioni (malattie metaboliche, epatite cronica e cirrosi, colestasi) la più importante riguarda la diagnosi differenziale tra epatite neonatale ed atresia delle vie biliari (fig. 1). Come è noto, entrambe le affezioni si manifestano con ittero ingravescente che compare nel primo mese di vita, ma, mentre la prima non richiede alcun trattamento chirurgico, la seconda impone un tempestivo intervento derivativo. Quanto più precoce è l'intervento tanto maggiori sono le possibilità di successo, per cui risulta evidente l'importanza di una diagnosi laparoscopica precoce.

*Patologia dell'apparato genitale.* — Oltre che per la definizione diagnostica di quadri di ermafroditismo, amenorrea e dolori pelvici cronici dell'adolescente, la l. è l'indagine più attendibile per lo studio del testicolo criptorchide non palpabile (Weis e Seashore, 1987). Con la visualizzazione diretta di deferente, anello inguinale interno, vasi spermatici ed eventualmente del testicolo intraddominale (fig. 2), essa consente una precisa programmazione chirurgica comportando un prolungamento della narcosi di soli 10-15 minuti.

*Masse addominali.* — Nei casi in cui indagini meno invasive (ecografia, TC, RMN) non chiariscano la natura di una massa, l'esame laparoscopico consente di solito di eliminare ogni dubbio permettendo inoltre prelievi bioptici mul-

Fig. 1. Atresia delle vie biliari: la colecisti è ridotta a una banda fibrosa biancastra retratta. Si noti l'irregolarità della superficie epatica che in questa immagine ravvicinata già mostra iniziale nodularità.

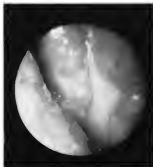



Fig. 2. Criptorchidia: il testicolo destro, intraddominale, è adagiato sui vasi iliaci interni. A sinistra si osserva la salienza del legamento laterale della vescica.

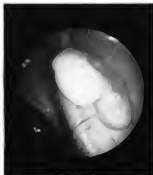



Fig. 3. Linfangioma mesenterico: tra le anse emerge una massa biancastra adesa al mesentere.





Digitized by Google

Fig. 4. Peritonite tubercolare: molteplici noduli miliari biancastri sono visibili sul peritoneo viscerale (in basso in primo piano) e sul legamento rotondo (in alto). A sinistra del legamento è ancora presente una falda scura di versamento.

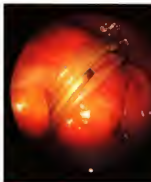



Fig. 5. *A sinistra*: catetere ventricolo-peritoneale distaccato; il catetere, avvolto in più spire intorno al colon, è ben visibile. *A destra*: afferrato con la pinza bioptica, il catetere viene asportato attraverso la camicia dello stesso trequarti usato per l'endoscopia.

tipli su eventuali neoplasie e fornendo un attendibile giudizio sulla loro stadiazione ed operabilità. Tra le masse che si giovano della laparoscopia per una loro precisa diagnosi, vanno annoverati i linfangiomi mesenterici (fig. 3), le duplicazioni cistiche del tubo digerente e le cisti ovariche.

*Splenomegalia.* — Nei casi in cui persistano dubbi sulla origine di una splenomegalia è possibile laparoscopicamente, oltre a valutare le condizioni del fegato svelando una eventuale cirrosi insospettata, procedere con sicurezza ad una biopsia splenica pervenendo spesso ad una diagnosi definitiva (glicogenosi, leishmaniosi, linfoma, semplice infiltrazione granulocitica).

*Malattie peritoneali.* — È raro che nei bambini si debba ricorrere alla l. per la definizione di una peritonite carcinomatosa, mentre al contrario questa indagine resta il mezzo più efficace per la diagnosi di peritonite tubercolare (fig. 4).

*Complicanze dello shunt ventricolo-peritoneale.* — I piccoli pazienti portatori di derivazione ventricolo-peritoneale per idrocefalia (Morgan, 1979) hanno una aspettativa di vita pressoché normale, sempre che il sistema di derivazione rimanga sterile e ben funzionante (v. IDROCEFALO; IDROCEFALO*). È pertanto importante preservare al massimo il versante peritoneale di riassorbimento della derivazione, dato che a questo livello possono verificarsi varie complicanze meccaniche: distacco del catetere, formazione di pseudocisti, perforazione di un viscere cavo, perforazione della parete addominale. In molti di questi casi la l. è in grado di individuare con precisione la complicanza evitando così una laparotomia e la conseguente formazione di aderenze peritoneali. È spesso inoltre possibile trattare la complicanza endoscopicamente (Porreca *et al.*, 1987): rimozione del catetere caduto (fig. 5), lisi di aderenze, fenestrazione di una pseudocisti, riposizionamento del catetere.

*Urgenze.* — L'ultima, non meno importante, indicazione alla l. pediatrica è costituita dalla patologia addominale di urgenza sia spontanea sia, soprattutto, traumatica. La l. infatti è in grado di escludere con certezza, nei casi dubbi in cui si dovrebbe procedere ad una laparotomia, la presenza di lesioni di organi addominali, consentendo di evitare un intervento chirurgico esplorativo che potrebbe risultare inutile, oltre che pericoloso, specie quando coesistono importanti lesioni di altri organi o apparati (traumi cranioencefalici, traumi toracici).

**Bibliografia**


Cortesi N., Manenti A., Bruni G. C., *Il lattante*, 1969, **9**, 1-9.
Esposito G., Porreca A., *Aggiornamento del Medico*, 1986, **10**, 122-131.
Gans S. L., Berci G., *J. Pediatr. Surg.*, 1973, **8**, 399-405.
Gans S. L. ed., *Pediatric Endoscopy*, 1983, Grune &Stratton, New York, pp. 151-194.
Morgan W. W., *J. Pediatr. Surg.*, 1979, **14**, 180.
Porreca A., de Luca U., Gangemi M., Donati P. A., Esposito C., *Endoscopy*, 1987, **19**, 84.
Weis M. R., Seashore J. H., *J. Urol.*, 1987, **138**, 382.


GIOVANNI ESPOSITO, AURELIO PORRECA E CIRO ESPOSITO

## LARINGE [v. vol. VIII, col. 1000]

SOMMARIO GENERALE



### DIAGNOSTICA PER IMMAGINI

SOMMARIO

*tici.* - *Tumori dei seni piriformi.* - *Laringe trattata.* - **Patologia non tumorale** (col. 4281): *Flogosi cronica.* - *Pseudotumori.* - *Paralisi ricorrenziale.* - *Lesioni traumatiche.* - *Laringoceli.* - *Cisti.*

**Tecniche di esame**

L'importanza funzionale della laringe e la sua ricca e multiforme patologia hanno stimolato l'interesse della diagnostica radiologica fin dalle origini. Le difficoltà tecniche create dalla sovrapposizione della colonna vertebrale e dello scheletro laringeo, sono state superate e oggi disponiamo di numerose metodiche con le quali le singole strutture che compongono la l. e i tessuti peri- e paralaringei, possono essere studiati e analizzati in tutti i loro dettagli.

La diagnostica per immagini deve essere attualmente considerata come complemento indispensabile alla diagnostica clinica ed endoscopica per la definizione e la valutazione delle varie malattie laringee.

*Esame radiologico diretto del collo*

Nella proiezione laterale si possono documentare modificazioni della colonna aerea faringo-laringo-tracheale; tali alterazioni possono consistere in deviazioni, deformazioni e restringimenti. Le vallecole, l'epiglottide, le aritenoidi e spesso i ventricoli possono essere ben riconoscibili, come pure i seni piriformi, specialmente con la manovra di Valsalva. Questa indagine ha il significato di esame di approccio e, poiché le informazioni che fornisce sono soltanto orientative, oggi viene effettuata solo raramente.

*Tomografia tradizionale*

Permette di esaminare la l. non solo nella proiezione laterale ma soprattutto in quella frontale. Poiché fornisce una buona dimostrazione del lume aereo, è in grado di dare informazioni sulle condizioni della superficie interna della l. L'indagine viene eseguita facilmente nei diversi atteggiamenti funzionali: fonazione, inspirazione e manovra di Valsalva; pertanto è molto valida nel rilievo di alterazioni funzionali: ad es. la fissità di una corda vocale durante la inspirazione determinata da infiltrazione neoplastica viene chiaramente documentata (fig. 1).

Questo metodo può essere ancora impiegato nei centri in cui non esistono metodiche diagnostiche più moderne.

*Laringografia opaca*

Consiste nella introduzione, previa anestesia di superficie, di un mezzo di contrasto (m. di e.) opaco molto viscoso, in modo da verniciare accuratamente la superficie interna della l. e della ipofaringe. In tale modo lo strato opacato costituisce un doppio contrasto con la colonna aerea e le immagini che ne derivano sono iconograficamente valide e ricche di dettagli (fig. 2).

Anche con questo metodo le strutture laringee possono essere esaminate nei diversi atteggiamenti funzionali; si può associare la tomografia. Per molto tempo questo è stato il metodo più valido per lo studio anatomo-funzionale della l. Tuttavia ad una analisi attuale il metodo presenta notevoli limitazioni che possono essere compendiate in:

necessità dell'anestesia;

necessità di impiego di m. di e.;

questi elementi rendono l'esame relativamente invasivo, non sempre facilmente attuabile, mal accetto dal paziente, difficilmente ripetibile;

ottima visibilità della superficie interna delle strutture laringee, ma mancanza quasi assoluta di informazioni sulle strutture profonde e sulle regioni peri- e paralaringee.

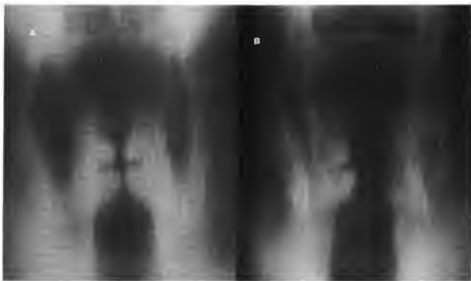



Fig. 1. Tomografia tradizionale. *A* = fonazione. *B* = inspirazione profonda. Nella inspirazione la corda vocale di destra non si abduce e rimane fissa e sporgente nel lume laringeo per infiltrazione da parte di neoplasia cordale.



Digitized by Google

Fig. 2. Laringografia opaca: proiezione laterale. Lungo il decorso delle corde vocali sono visibili formazioni rotondeggianti, bozzute e multiple determinate da poliposi (*frecce*) (controllo istologico). (*Da Di Guglielmo et al., 1963*).

Fig. 3. Xerografia: proiezione laterale. Tumore del corpo della epiglottide (*frecce*) che invade la loggia ioiro-epiglottica (*).

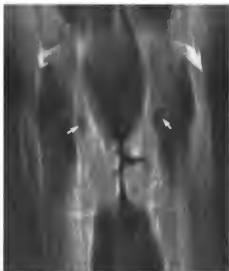



Fig. 4. Xerotomografia: proiezione antero-posteriore. Atteggiamento di fonazione. Flogosi cronica diffusa: a sinistra la corda vocale è notevolmente ispessita e presenta sul contorno superiore una piccola verruca che sporge nel ventricolo deformandolo. A destra, eversione ventricolare: fra la corda vocale e la falsa corda si apprezza una terza sporgenza determinata dalla mucosa del ventricolo tumefatta. Si apprezzano ancora due piccoli laringoceli clinicamente non visibili (*frecce*).

Per queste ragioni il metodo, nonostante la bellezza iconografica, è stato praticamente accantonato.

*Xerografia e xerotomografia*

Le caratteristiche proprie di questo metodo, in particolare l'effetto bordo e l'ampia latitudine di esposizione, hanno permesso di realizzare un notevole progresso rispetto alle indagini precedentemente descritte. Infatti si ottiene non solo una migliore visibilità della superficie interna della l., ma si possono anche rilevare numerosi elementi riguardanti le parti molli del collo e in particolare le regioni perilaringee; la lesione pertanto può essere valutata non solo nella parte aggettante nel lume laringeo ma anche in profondità, nello spessore delle parti molli. Gli atteggiamenti funzionali possono essere chiaramente valutati. Si ottiene una buona dimostrazione delle cartilagini laringee (figg. 3 e 4).

Questa metodica trova attualmente scarso impiego perché la realizzazione di metodiche più moderne, quali la tomografia computerizzata (TC) e la risonanza magnetica nucleare (RMN), ha permesso di ottenere un numero molto maggiore di informazioni. Tuttavia, nei centri ove non esistono attrezzature di TC o di RMN, la xerografia deve essere indicata come il metodo migliore per lo studio della patologia laringea.

*Tomografia computerizzata*

Le attrezzature di tomografia computerizzata sono ormai abbastanza largamente diffuse e facilmente accessibili. La metodica ha costituito un indiscutibile progresso per una





Digitized by Google

serie di motivi che possiamo schematizzare nel modo seguente:

a) elevato potere di definizione e buona risoluzione di contrasto. È possibile pertanto documentare le condizioni del lume aereo, della superficie interna, dei piani profondi, dello scheletro cartilagineo, delle regioni peri- e paralaringee e delle parti molli circostanti, con particolare riferimento ai linfonodi e alle strutture vascolari;

b) immagini ottenute con sezioni trasversali e quindi molto simili alla visione endoscopica;

c) possibilità di impiegare m. di c. opaco che può esaltare le piccole differenze di contrasto e quindi evidenziare strutture o alterazioni altrimenti non riconoscibili; inoltre il particolare comportamento delle strutture patologiche dopo somministrazione di m. di c. può orientare il giudizio diagnostico; infine è possibile documentare l'interessamento o meno delle formazioni vascolari;

d) lo studio negli atteggiamenti funzionali è meno agevole rispetto alle metodiche tradizionali, ma è sempre possibile e con risultati validi.

L'esperienza ormai pluriennale ha dimostrato limiti relativamente modesti nell'impiego della TC; questi riguardano: *a)* lo studio dei ventricoli che non sempre sono ben documentabili nelle sezioni trasversali; *b)* il grado di invasione o meno delle cartilagini; *c)* la difficoltà di ottenere immagini ricostruite su piani longitudinali e coronali.

Con gli apparecchi più recenti si possono ottenere immagini con tempi di esposizione brevi o brevissimi; ciò permette un notevole miglioramento nello studio degli atteggiamenti funzionali, una riduzione degli artefatti e una maggiore ricchezza nella qualità dell'immagine. Si può dire che allo stato attuale la TC costituisce un metodo molto affidabile nello studio della l.

*Ecografia*

Nella letteratura più recente sono comparsi i primi contributi sull'impiego degli ultrasuoni nella diagnostica dei tumori laringei. La metodica trova un ostacolo nella colonna aerea contenuta nella l.; inoltre le cartilagini quando sono intensamente calcificate rappresentano ancora un ostacolo alla trasmissione degli ultrasuoni.

Possono essere opportunamente indagati tutti i tessuti che si trovano anteriormente e lateralmente alla l.; l'indagine può essere utilmente estesa anche verso l'alto, fino alla base della lingua. La stessa loggia pre-epiglottica viene ben documentata. Per le ragioni sopraddette, al contrario, le possibilità sono molto limitate nello studio della parte posteriore della l. e delle formazioni che si accrescono all'interno del lume laringeo.

Il metodo risulterebbe particolarmente sensibile nella dimostrazione dell'interessamento dei vasi del collo; poiché è visibile la parete del vaso, è possibile documentare l'infiltrazione anche quando il lume non sia ancora ostruito.

Anche la dimostrazione delle alterazioni linfonodali risulta molto attendibile. Va sottolineato tuttavia che le alterazioni ora descritte e ben documentabili riguardano le strutture relativamente superficiali, mentre per quelle più profonde i dati sono meno attendibili.

Come si è detto l'esperienza attuale è ancora limitatissima. Non vi è dubbio che la potenzialità evolutiva della metodica è molto ampia; allo stato presente tuttavia non è possibile individuare delle vere e proprie indicazioni al suo impiego pratico.

*Risonanza magnetica nucleare*

Mentre la TC nel futuro potrà essere solo perfezionata avendo ormai dato gran parte di quello che il metodo può

Fig. 5. RMN. Anatomia normale sul piano sagittale mediano. 1) Epiglottide; 2) vallecole; 3) tonsilla linguale; 4) loggia pre-epiglottica; 5) cartilagine aritenoidea; 6) cricoide; 7) anello tracheale; 8) legamento tiro-epiglottico.

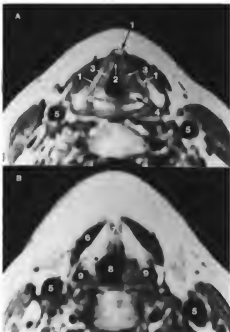



Fig. 6. RMN. Anatomia normale assiale. *A)* Piano glottico: 1) cartilagine tiroide; 2) commissura anteriore; 3) corde vocali vere con muscoli tiro-aritenoidei e vocali; 4) processo vocale delle cartilagini aritenoidee; 5) arterie carotidi. *B)* Piano sopraglottico: * false corde e spazio paralaringeo con elevato segnale dovuto al normale adipe; 6) muscoli sterno-omo-tiro-ioidei; 7) legamento tiro-epiglottico; 8) lume aereo del vestibolo laringeo; 9) seni piriformi.

fornire, la RMN è ancora in evoluzione e non ha espresso tutta la potenzialità del metodo. È possibile prevedere che nel futuro, con il perfezionamento delle attrezzature e la maggiore esperienza, questa metodica sarà quella di maggiore impiego. Allo stato attuale i risultati sono già validi e presentano alcuni aspetti particolarmente positivi:

a) multiplanarietà: si possono ottenere immagini secondo piani trasversali ma anche secondo piani longitudinali o obliqui con la visione più completa e precisa delle strutture in esame (figg. 5 e 6);

b) il potere di definizione, inizialmente modesto, grazie al perfezionamento della tecnica (bobine di superficie, tempi di acquisizione brevi, realizzazione di strati sottili) è progressivamente migliorato, fornendo immagini qualitativamente sempre migliori e valide ai fini diagnostici;

c) risoluzione di contrasto elevata con possibilità di individuare strutture anche con modeste differenze di intensità di segnale (fig. 6);

d) dimostrazione diretta delle strutture vascolari senza necessità di ricorrere ai m. di c.;

e) migliore valutazione e dimostrazione dei linfonodi del collo.

I lunghi tempi di scansione limitano la possibilità dello studio funzionale e rendono difficile l'esecuzione dell'esame in pazienti sofferenti e in cattive condizioni. I costi dell'indagine sono ancora elevati e la disponibilità delle attrezzature è ancora limitata.

**Premessa alla diagnostica delle malattie della laringe**

Nello studio delle malattie della l. si ricorre alle indagini radiologiche e di diagnostica per immagini con le seguenti finalità (Di Guglielmo *et al.*, APC SIRMN 1988):

dimostrazione della lesione;

definizione dei criteri morfologici che possono orientare sulla sua natura;

definizione della sua estensione, sia in profondità sia in senso longitudinale (prossimale e distale);

dimostrazione dell'eventuale coinvolgimento dello scheletro laringeo e degli spazi peri- e paralaringei;

dimostrazione dell'eventuale coinvolgimento delle parti molli circostanti, dei linfonodi e dei vasi;

valutazione di alterazioni funzionali;

stadiazione delle lesioni maligne.

Nella attività pratica le indagini radiologiche seguono e sono complementari allo studio clinico ed endoscopico. Ne derivano le seguenti situazioni basilari:

a) *diagnosi clinica (e spesso istologica) già posta*: le indagini radiologiche hanno il compito di precisare l'estensione delle lesioni e di definire il coinvolgimento delle strutture circostanti, assumendo valore talvolta decisivo sull'orientamento terapeutico;

b) *diagnosi clinica incerta*: le indagini radiologiche assumono significato primario diagnostico, che spesso può essere risolutivo.

La stretta collaborazione tra clinico, endoscopista e radiologo è un fattore determinante e si risolve nel massimo vantaggio per la diagnosi e per l'orientamento terapeutico.

**Tumori maligni**

*Introduzione*

Le neoplasie maligne della l. si presentano semeiologicamente come:

a) *manifestazioni vegetanti*, che si accrescono nel lume laringeo e che sono abitualmente ben riconoscibili per il contrasto con il lume aereo;

b) *manifestazioni infiltranti*, caratterizzate da alterazioni

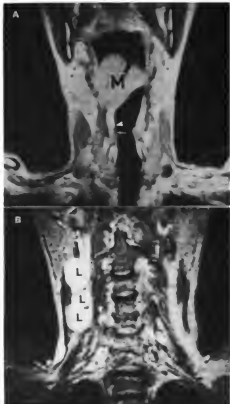



Fig. 7. RMN. Tumore sopraglottico. *A*) Piano coronale: massa (M) con segnale analogo a quello dei muscoli nella regione della epiglottide. Le vere (*freccia*) e le false corde (*punta di freccia*) sono normali. *B*) Piano coronale più posteriore. Sequenza $T_2$; tumefazioni linfonodali laterocervicali di varie dimensioni sono ben distinte dalle strutture circostanti (L).

e rigidità della parete, con infiltrazione degli strati sottostanti;

c) *manifestazioni ulcerative*, caratterizzate da perdite di sostanza più o meno estesa e generalmente molto irregolare. Sono quasi sempre associate alle manifestazioni vegetanti e infiltranti, ma talvolta rappresentano l'elemento dominante del quadro semeiologico che risulta caratterizzato dalla distruzione di intere strutture e di distretti (forme fagedeniche).

Con la TC non è raro poter documentare il contorno della neoplasia in profondità, grazie a differenze di densità con le strutture circostanti anche modeste, e che possono essere esaltate da m. di c. Con la RMN il tessuto neoplastico fornisce un segnale di intensità diversa da quella dei tessuti circostanti. Entrambe le metodiche pertanto, TC e RMN, possono fornire la visibilità diretta e completa della neoplasia, non solo lungo la superficie interna laringea ma





Digitized by Google

anche in profondità, nello spessore delle strutture perilaringee.

Nella definizione semeiologica delle neoplasie maligne, oltre ai caratteri propri del tumore, devono essere ancora considerati e valutati:

a) i *linfonodi del collo* che, quando sono interessati, si possono presentare con due aspetti molto diversi: 1) tumefazioni rotondeggianti, uniche o plurime, di varia grandezza, a contorni netti e regolari e quindi ben definite anche se molto numerose; 2) formazioni confluenti in una massa più o meno voluminosa, a contorni sfumati e irregolari, inomogenea, spesso con aree di necrosi.

Con la TC l'impiego di m. di c. è molto utile per differenziare i linfonodi dalle strutture vascolari; nel caso di masse la visibilità del tessuto patologico è esaltata e vengono documentate meglio le aree necrotiche.

Con la RMN nelle acquisizioni in *spin*-echo il sangue circolante nei vasi non dà alcun segnale; pertanto la differenziazione tra vasi e linfonodi è semplice e molto valida. La multiplanarietà inoltre permette la valutazione precisa del linfonodo non solo in senso assiale ma anche in senso longitudinale (fig. 7);

b) i *vasi del collo* che possono essere dislocati, compressi, infiltrati e ostruiti o direttamente dal tumore o dalle metastasi linfoghiandolari. Entrambe le metodiche, TC e RMN, sono assai valide per il rilievo di queste alterazioni; tuttavia la dimostrazione con la RMN sembra più immediata e più precisa anche per la possibilità della valutazione longitudi-

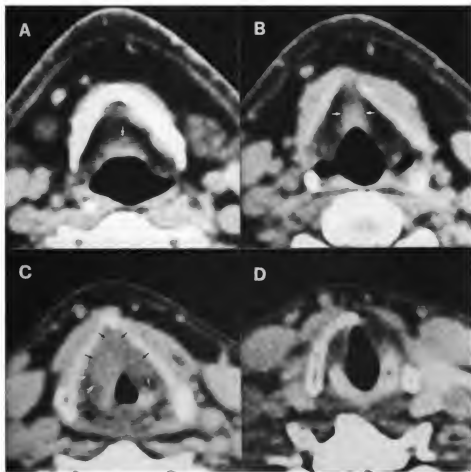



Fig. 8. Tomografia computerizzata. Tumore della regione sopraglottica, del corpo dell'epiglottide con invasione della loggia preepiglottica (*frecce*) (*A*, *B*) e degli spazi paralaringei (*frecce*) (*C*). Il piano cordale e la commissura anteriore sono normali (*D*).



Digitized by Google

nale: è verosimile che con il perfezionamento delle tecniche di *fast imaging* si possa ottenere la visibilità diretta dei vasi dei quali si sospetta l'interessamento.

La valutazione corretta offerta dalla TC e dalla RMN del tumore e delle sue caratteristiche, dei linfonodi, dei vasi e dei tessuti perineoplastici, costituisce la base essenziale per la più precisa stadiazione del tumore e influenza in maniera determinante la prognosi e il tipo di terapia da instaurare.

*Tumori sopraglottici*

a) *Epiglottide*. – Può essere interessata diffusamente, oppure nei suoi singoli settori anatomici. I tumori della *parte libera* possono estendersi anteriormente verso le vallecole glosso-epiglottiche e in basso, verso la loggia pre-epiglottica. Posteriormente si accrescono nel lume della ipofaringe, vegetando al di sopra del vestibolo laringeo; talvolta si estendono lungo le pliche ari-epiglottiche fino a interessare la parete laterale dell'ipofaringe e le parti molli contigue.

I tumori del *corpo* dell'epiglottide possono accrescersi posteriormente, nel vestibolo laringeo, che risulta ristretto e deformato. Anteriormente invadono facilmente la loggia pre-epiglottica. Lateralmente si possono estendere lungo le pliche ari-epiglottiche (figg. 7 e 8).

Il *peduncolo* è colpito raramente in forma isolata. La neoplasia può sporgere nel vestibolo al di sopra della commissura anteriore, ma spesso si estende anche alla commis-

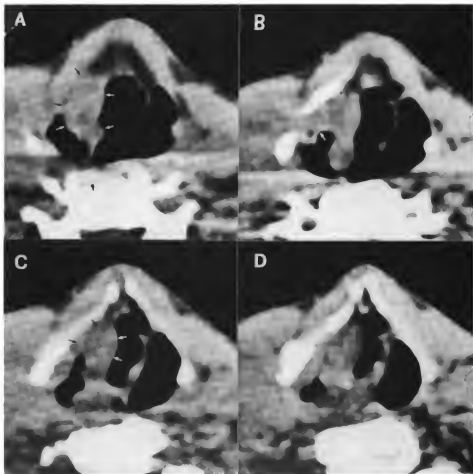



Fig. 9. Tomografia computerizzata. Neoplasia maligna della regione sopraglottica estesa alla plica ari-epiglottica (*A*, *B*) e alla falsa corda (*C*, *D*) di destra, con invasione del corrispondente spazio paralaringeo (*frecce*). Il lume del vestibolo laringeo è ridotto e deformato.



Digitized by Google

sura e alla loggia pre-epiglottica. In questi casi è facile l'infiltrazione con distruzione della cartilagine tiroide.

b) *Pliche ari-epiglottiche*. – Le neoplasie sono generalmente vegetanti e spesso ulcerate, con sviluppo verso il vestibolo. Non è raro tuttavia che esse si accrescano anche lateralmente verso il seno piriforme. Posteriormente possono interessare la regione aritenoidea (fig. 9, *A* e *B*).

c) *False corde*. – La neoplasia si accresce verso il vestibolo laringeo deformandolo (fig. 9, *C* e *D*); è spesso ulcerata; può raggiungere e superare la linea mediana anteriore. Non raramente si estende nel seno piriforme. Le immagini in sezione assiale possono documentare l'eventuale invasione dello spazio paralaringeo. Posteriormente è possibile l'estensione alla regione aritenoidea. In basso è frequente l'invasione del ventricolo; questa è meglio documentabile nelle immagini ottenute secondo piani coronali.

Questi tumori sono ben visibili nell'atteggiamento di fonazione ma sono meglio documentabili durante l'inspirazione o la respirazione tranquilla: il lato sano si abduce regolarmente mentre quello infiltrato rimane fisso e sporgente nel lume laringeo.

d) *Regione aritenoidea*. – La neoplasia in questa sede appare per lo più come una tumefazione rotondeggiante e bozzuta che si accresce in alto e in avanti nel vestibolo laringeo; lo spazio inter-aritenoideo è abitualmente annullato. L'accrescimento può avvenire lungo la plica ari-epiglottica, che spesso è tumefatta ed edematosa. È frequente l'insorgenza di alterazioni funzionali delle corde vocali per invasione e distruzione delle cartilagini aritenoidee.

La differenziazione del tessuto neoplastico dall'edema può essere difficile sia con la TC che con la RMN, sebbene quest'ultima possegga presupposti teorici assai più validi.

*Tumori glottici*

a) *Tumori del ventricolo*. – La dimostrazione di queste neoplasie è molto importante perché anche con l'endoscopia il loro rilievo può offrire notevoli difficoltà. Fra le indagini radiologiche sono maggiormente indicate quelle che forniscono immagini in senso longitudinale (laringografia, xerografia, RMN). Al contrario la TC trova in questa regione uno dei suoi limiti più importanti. La neoplasia si può estendere verso l'alto invadendo la falsa corda, verso il basso invadendo la corda vocale e lateralmente estendendosi nelle regioni paralaringea e paraglottica.

Anteriormente può essere interessata la commissura anteriore; posteriormente la regione aritenoidea.

b) *Corde vocali*. – La neoplasia è più frequentemente localizzata sulla metà anteriore della corda e generalmente sporge nella rima della glottide, riducendola e deformandola (fig. 10). Quando raggiunge in profondità lo strato muscolare della corda questa rimane fissa e durante la respirazione sporge nel lume laringeo (fig. 10). Solo nelle forme molto iniziali e a sviluppo esofitico la corda vocale può dimostrare anche una buona mobilità.

La RMN fornisce la visibilità diretta dello strato muscolare della corda e quindi la migliore dimostrazione della sua invasione da parte del tumore. La neoplasia si può estendere anteriormente verso la commissura anteriore, in alto verso il ventricolo e in basso verso la regione sottoglottica (fig. 11).

I tumori localizzati alla parte posteriore della corda possono raggiungere e invadere posteriormente la regione aritenoidea. Lateralmente e in profondità le neoplasie cordali possono invadere lo spazio paraglottico. La TC fornisce una ottima documentazione della neoplasia cordale, mentre il suo sviluppo longitudinale (verso il ventricolo e verso la regione sottoglottica) è documentato con maggiore precisione dalla RMN o eventualmente dalla xerografia.

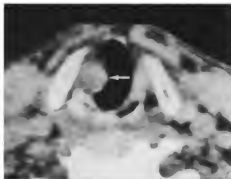



Fig. 10. Tomografia computerizzata. Tumore maligno della regione glottica. Lungo la corda vocale di destra si apprezza una formazione sfrangiata e irregolare che durante la inspirazione sporge nel lume laringeo (*freccia*).

I tumori cordali provocano con una certa frequenza una tumefazione edematosa della regione sottoglottica; questa può essere erroneamente interpretata come estensione della neoplasia e quindi condurre ad una sovrastadiazione (fig. 12). Tumori a localizzazione prevalentemente anteriore si possono estendere bilateralmente alle due corde vocali determinando nella visione assiale il caratteristico aspetto del «tumore a cingolo».

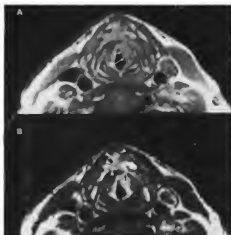



Fig. 11. RMN. Tumore glottico. *A*) Immagine ottenuta in densità protonica: tumefazione della parte anteriore della corda vocale di destra con intensità di segnale poco differente dai tessuti circostanti (*frecce*). *B*) Stesso piano in sequenza $T_2$. Il segnale del tessuto neoplastico ha maggiore intensità ed è meglio riconoscibile l'estensione anteriore, l'infiltrazione cartilaginea (*frecce*) e l'accrescimento fra i muscoli infraioidei (*punte di frecce*). (*Dovuta alla cortesia del Prof. R. Romagnoli*).





Digitized by Google

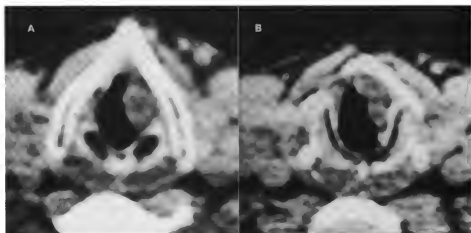



Fig. 12. Tomografia computerizzata. Tumore della regione glottica. A sinistra la corda vocale è tumefatta e rigida, sporgendo nel lume laringeo. La tumefazione si porta in avanti verso la commissura anteriore (*A*) e in basso verso la regione sottoglottica (*B*) che appare estesamente interessata. All'intervento chirurgico quest'ultimo reperto è risultato costituito solo da edema: la neoplasia era circoscritta alla corda vocale. Pertanto l'esame aveva condotto alla sovrastadiazione della malattia.

*Tumori sottoglottici*

Non sempre agevolmente riconoscibili con la laringoscopia, queste neoplasie sono documentate in maniera molto precisa con le metodiche radiologiche (fig. 13). Appaiono come formazioni vegetanti al di sotto del piano cordale, più o meno estese lungo la parete laringea. Possono svilupparsi anteriormente, infiltrando e distruggendo la cartilagine cricoide, verso l'alto invadendo le corde vocali, in basso verso la trachea, posteriormente verso il castone della cricoide. La membrana cricotiroidea può essere infiltrata con invasione delle parti molli del collo.

Sia la TC che la RMN sono determinanti nella definizione di invasione di alcune regioni come ad es. lo spazio parafaringeo.

*Tumori dei seni piriformi*

I seni piriformi non fanno parte anatomicamente della l.; tuttavia la parete mediale confina con la l.; pertanto le neoplasie nate in questa sede sono difficilmente classificabili e vengono abitualmente inquadrate come «faringo-laringee».

I tumori dei seni piriformi si accrescono nel lume del seno, restringendolo e deformandolo, fino ad annullarlo completamente (fig. 14). Possono raggiungere la parete laterale e, superata questa, estendersi nelle parti molli del collo. Medialmente possono infiltrare la l. e accrescersi nel vestibolo laringeo. Posteriormente e in basso possono infiltrare il tessuto lasso dello spazio cricotiroideo.

È frequente l'invasione delle cartilagini e in particolare di quella tiroidea (fig. 15). La manovra di Valsalva e la fonazione sono utili perché documentano meglio il lume aereo del seno e quindi permettono la valutazione più precisa dell'estensione del tumore.

*Laringe trattata*

Soprattutto la TC trova indicazione nei pazienti già sottoposti a trattamenti per malattie laringee, allo scopo di:

confermare il sospetto clinico di una recidiva;
indicare la sede più adatta alla biopsia;
valutare l'estensione dell'eventuale recidiva.

I quadri normali e i rilievi patologici sono differenti a seconda del trattamento subito, chirurgico o radiante.

Nelle l. sottoposte a intervento chirurgico, nonostante la variabilità dell'obliterazione dei piani di clivaggio e delle strutture anatomiche conservate, è possibile definire i quadri TC normali di ciascun tipo di intervento chirurgico radicale o conservativo. Dopo la laringectomia totale i piani adiposi circostanti sono spesso poco apprezzabili e per questo motivo può essere a volte poco agevole riconoscere tessuti neoplastici recidivati, che più spesso insorgono all'interno del lume aereo residuo o della neofaringe (fig. 16). Alcune alterazioni benigne, come tessuto di granulazione, possono simulare alla TC recidive nei pazienti sottoposti a chirurgia non radicale; altre più rare alterazioni, come cisti da inclusione, possono essere correttamente riconosciute. Anche in RMN processi infiammatori, ascessi compresi, non sono sempre agevolmente differenziabili dalle recidive neoplastiche.

Nelle l. radiotrattate già dopo le prime settimane dal trattamento si possono osservare le modificazioni indotte non solo sulla lesione neoplastica, che può anche sparire sull'esame TC o RMN, ma anche sulle strutture extralaringee (ispessimento del platisma, immagini di strie fibrose nei clivaggi e spazi adiposi) e su quelle laringee (ispessimento delle pareti laringo-faringee, delle pliche, dell'epiglottide, aumento di densità dell'adipe sottomucoso) (fig. 17). Nei primi mesi dopo il trattamento, alterazioni come l'edema laringeo e la condronecrosi possono simulare più in TC che in RMN recidive e infiltrazioni neoplastiche. Pertanto la valutazione delle l. trattate può incontrare difficoltà in TC e in RMN; i dati che si ottengono devono essere attentamente correlati con il quadro





Digitized by Google

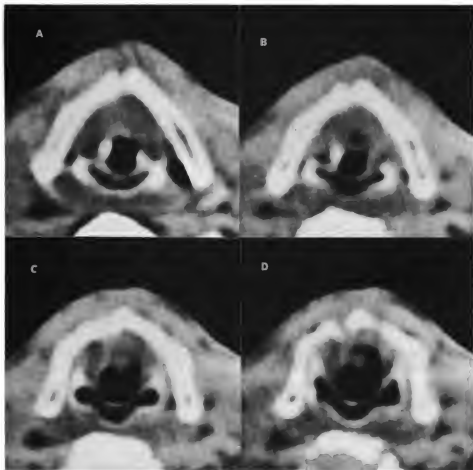



Fig. 13. Tomografia computerizzata. Neoplasia della regione sottoglottica. Tumefazione localizzata nella parte anteriore (*A*, *B*) della regione sottoglottica che è ristretta e deformata (*C*, *D*).

clinico e il tipo di trattamento e devono essere alla fine confortati dalle indagini bioptiche.

**Patologia non tumorale**

L'impiego delle indagini radiologiche trova indicazione nelle seguenti condizioni:

a) diagnosi clinica o endoscopica incerta: in questo caso le indagini radiologiche possono portare un contributo diagnostico spesso risolutivo;

b) diagnosi clinica ed endoscopica già bene orientata; in queste condizioni le indagini radiologiche hanno lo scopo di precisare ulteriormente la sede e la estensione delle lesioni, l'eventuale coinvolgimento delle strutture contigue e infine di rilevare l'eventuale coesistenza di altri processi patologici, sia della stessa natura sia di altra natura (neoplasie maligne).

*Flogosi cronica*

Le corde vocali e le false corde sono ispessite e spesso deformate: tuttavia conservano normale motilità. Questi reperti sono documentati molto bene con la xerotomografia, ma anche con la TC e la RMN. I contorni delle corde vocali possono essere irregolari per la presenza di processi iperplastici e di placche leucoplasiche.

Spesso alla flogosi cronica si associa l'eversione ventricolare: la mucosa del ventricolo prolassata sporge nel lume





Digitized by Google

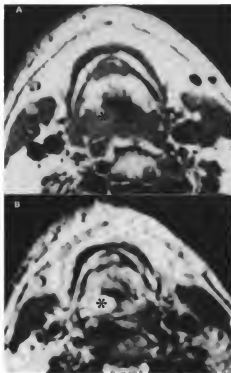



Fig. 14. Tumore del seno piriforme (*). Piano dell'osso ioide. Nell'immagine ottenuta in densità protonica (*A*) la regione del seno piriforme di sinistra è tumefatta rispetto alla controlaterale; il tessuto patologico diventa nettamente iperintenso nell'immagine ottenuta in $T_2$ (*B*).

aereo e lo deforma. Frequentemente la flogosi è associata a laringoceli monolaterali o anche bilaterali (fig. 4).

*Pseudotumori*

Sono neoformazioni di natura benigna che si riscontrano per lo più nell'adulto e fra le quali le più frequenti sono i *polipi* e le *verruche*. Appaiono come formazioni vegetanti a contorni molto netti, di grandezza variabile, localizzati per lo più sulla parte anteriore delle corde vocali. Talvolta sono muniti di un peduncolo, ma più spesso sono sessili. La corda vocale conserva normale motilità, in modo che durante la inspirazione o nella respirazione tranquilla (quando le corde sono abdotte) la formazione polipoide rimane sporgente e isolata nel lume laringeo. Questo reperto è decisivo per la diagnosi differenziale con le neoplasie maligne. Più raramente gli pseudotumori si possono riscontrare nella regione sottoglottica o in quella aritenoidea.

*Paralisi ricorrenziale*

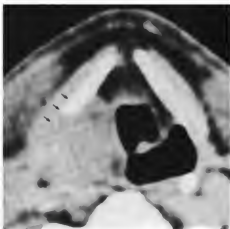
Le cause della paralisi ricorrenziale sono numerose e di varia natura (neoplasie tiroidee, aneurisma della concavità



Fig. 15. Tumore del seno piriforme di destra che è interamente occupato dalla neoplasia. Quest'ultima si accresce lateralmente infiltrando e distruggendo la cartilagine tiroide (*frecce*).

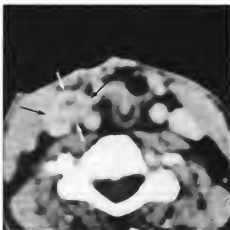



Fig. 16. Esame eseguito dopo laringectomia. In sede centrale si apprezza la cicatrice esito della laringectomia. Lateralmente a destra è visibile una formazione irregolare che si accresce nelle parti molli comprese tra il piano cutaneo, le grosse formazioni vascolari (carotide e giugulare) che sono dislocate compresse e ristrette. Il reperto è determinato da recidiva locale (*frecce*).

dell'arco aortico, esiti di intervento chirurgico, masse mediastiniche, etc.). Il quadro che ne deriva è costante e caratteristico: durante la fonazione le corde vocali sono addotte, mentre durante la respirazione tranquilla la corda normale si abduce e quella paralitica rimane invece fissa e



Digitized by Google

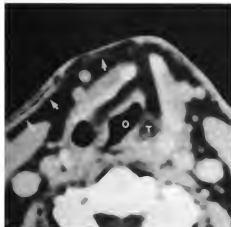



Fig. 17. L. radiotrattata sei mesi prima per neoplasia cordale sinistra. Si apprezzano gli esiti del trattamento radiante con ispessimento dell'immagine cutanea, del platisma (*frecce*) e di tutta la mucosa del vestibolo laringeo (O), e a sinistra una masserella (T) sulla plica ari-epiglottica e nello spazio paralaringeo posteriore che ostruisce il seno piriforme. (*Da Dore et al., 1990*).

sporgente nel lume laringeo (fig. 18). Il corrispondente ventricolo è notevolmente ingrandito. La cartilagine aritenoide non mostra i normali movimenti di rotazione. Le indagini radiologiche estese verso il basso sono spesso utili per dimostrare anche la causa della paralisi.

*Lesioni traumatiche*

Negli esiti di *traumi diretti* si possono documentare alterazioni dello scheletro laringeo, come fratture, lussazioni e dislocazioni di frammenti; il lume aereo viene deformato e ristretto; si possono determinare alterazioni cicatriziali stenosanti, spesso a diaframma (fig. 19).

Le immagini secondo piani assiali (TC) definiscono molto bene l'entità e la morfologia delle stenosi; le indagini che forniscono immagini longitudinali (xerografia e RMN) sono più utili per valutare la lunghezza della stenosi.

Dopo ricostruzione chirurgica le indagini radiologiche,

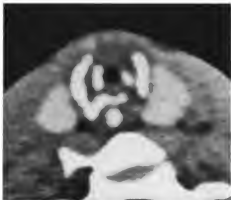



Fig. 19. Stenosi laringea post-traumatica. In sede sottoglottica il lume laringeo è fortemente ridotto da stenosi di tipo cicatriziale. Le strutture cartilaginee sono frammentate e dislocate.

Fig. 18. Paralisi ricorrenziale. *A* = fonazione. *B* = respirazione tranquilla. Durante la respirazione la corda vocale destra si abduce regolarmente, mentre quella di sinistra rimane fissa e sporgente nel lume laringeo.



Digitized by Google

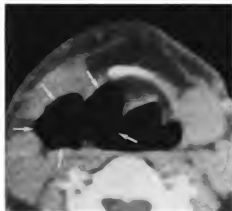



Fig. 20. Ampio laringocele misto a destra: la formazione distesa da aria è in parte disposta medialmente alla membrana tiro-ioidea, ma in parte si estende al di fuori (*frecce*).

facilmente ripetibili, sono utili per il controllo dell'evoluzione delle lesioni.

Tra le lesioni traumatiche vengono abitualmente incluse anche le *alterazioni iatrogene* generalmente stenosanti, che possono essere dovute agli esiti di intubazione o di chirurgia conservativa o di radioterapia.

*Laringoceli*

Appaiono come tumefazioni a contenuto aereo, rotondeggianti, a contorni netti e regolari, che si sviluppano al di fuori del lume aereo laringeo, nello spessore delle false corde, delle pliche ari-epiglottiche o nelle parti molli perilaringee. Aumentano di volume durante la fonazione e la manovra di Valsalva.

Vengono suddivisi in *interni*, *esterni* e *misti* in base al comportamento rispetto alla membrana tiroioidea. La visione assiale è molto utile nella distinzione di questi tre tipi (fig. 20).

Possono essere mono- o bilaterali, frequentemente si associano ad altre condizioni patologiche come neoplasie maligne o flogosi con eversione ventricolare.

Talvolta il laringocele si riempie di liquido di secrezione delle ghiandole della mucosa che ristagna per occlusione dell'ostio appendicolare (*laringo-mucocele*). La sovrapposizione di un processo infettivo, con formazione di pus, determina il quadro del *laringopiocele*. La TC è attualmente il metodo migliore per la valutazione di queste complicanze che è resa possibile sia dalla densitometria sia dal particolare *enhancement* periferico dopo iniezione endovenosa di m. di. c.

*Cisti*

Sono formazioni a contenuto liquido, localizzate per lo più nelle vallecole glosso-epiglottiche o nelle pliche ari-epiglottiche, di forma rotondeggiante a contorni netti. La TC e la RMN sono essenziali per definire la natura liquida del contenuto (fig. 21). Talvolta le cisti possono essere peduncolate e quindi dotate di relativa motilità. Le cisti del *dotto tireoglosso* prendono origine da strutture extralaringee; tuttavia spesso contraggono stretti rapporti con la l. Esse appaiono in sede mediana al davanti dell'osso ioide e della membrana tiroioidea. Hanno contenuto liquido piuttosto denso: la visione assiale permette la migliore definizione di queste formazioni e dei loro rapporti con la l.

**Bibliografia**

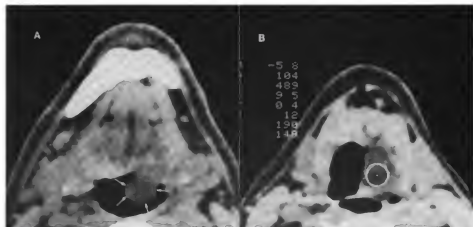

Castelijns J. A., Kaiser M. C., Valk J. *et al.*, *J. Comput. Assist. Tomogr.*, 1985, **11**, 919.
Curtin H. D., *Radiology*, 1989, **173**, 1.
Di Guglielmo L., Beretta L., Cattaneo L., *Radiol. Med.*, 1963, **49**, 33.


Fig. 21. Cisti della vallecola glosso-epiglottica di sinistra. Le scansioni a differente livello (*A* e *B*) dimostrano che la vallecola è interamente occupata da una formazione rotondeggiante (*frecce*) a contenuto liquido (densità: -5 unità Hounsfield).



Digitized by Google

Di Guglielmo L., Campani R., Garbagna P., Mira F., *La Xeroradiografia in Otorinolaringoiatria*, 1977, Excerpta Medica, Amsterdam.
Di Guglielmo L., Vadalà G., Dore R. *et al.*, *Radiol. Med.*, 1982, **68**, 865.
Di Guglielmo L., Vadalà G., Galioto G. B. *et al.*, *Radiol. Med.*, 1984, **70**, 294.
Dore R., Di Guglielmo L., Di Giulio G., *Diagnostica TC delle malattie della laringe*, in Cammisa, Chiesa, Florio eds., *Imaging del Capo e del Collo*, 1990, Ed. Scient. Arch. Casa Sollievo della Sofferenza, San Giovanni Rotondo, pp. 127-145.
Gritzmann N., Traxler M., Grasl M., Pavelke R., *Radiology*, 1989, **171**, 171.
Lutman M., Lufkin R. B., Girelli G., *La Tomografia Computerizzata e la Risonanza Magnetica nelle neoplasie maligne della laringe*, 1987, Cortina, Verona.
Vadalà G., Di Guglielmo L., Dore R. *et al.*, *Radiol. Med.*, 1984, **70**, 722.

LUCIO DI GUGLIELMO E ROBERTO DORE

## AGGIORNAMENTO DI PATOLOGIA

SOMMARIO



### La terapia chirurgica delle stenosi laringo-tracheali

Le lesioni stenosanti acquisite della l. compaiono attualmente con più frequenza, per cui il rapporto tra forme congenite e forme acquisite si è modificato a favore delle seconde soprattutto per effetto dell'elevato numero di intubazioni oro-tracheali prolungate nella pratica anestesiologica e rianimatoria, e dei traumi del collo causati dagli incidenti stradali.

Sotto il profilo etiopatogenetico, le stenosi acquisite si possono distinguere in post-traumatiche, iatrogene, infiammatorie.

Le *forme post-traumatiche* sono riconducibili a traumi, chiusi o aperti, le *forme iatrogene* all'intubazione (per anestesia o rianimazione), alle manovre endoscopiche o alla tracheotomia non eseguite correttamente, e infine alla chirurgia parziale (oncologica) della l.; le *forme infiammatorie* che più facilmente possono provocare lesioni stenosanti sono la tubercolosi, la sarcoidosi, lo scleroma e la granulomatosi di Wegener. La difterite, che fino agli anni '50 rappresentava una frequente causa di stenosi, è oggi scomparsa grazie alla vaccinazione.

Dal punto di vista topografico, le stenosi laringo-tracheali si distinguono in stenosi vestibolari, glottiche, ipoglottiche, e tracheali. Questa distinzione non considera la motilità delle strutture laringee, e in particolare del distretto aritenoideo, che deve essere tenuta presente in rapporto all'approccio terapeutico da attuare.

Il trattamento chirurgico può essere endoscopico (microchirurgia o con il laser [v. sotto]), o prevedere l'impiego del tutore o *stent* laringo-tracheale, il cui scopo è di dilatare una struttura anatomica luminale stenotica (o che tende a ripetere la stenosi) favorendo la cicatrizzazione delle zone cruentate, inibendo la retrazione cicatriziale e il collasso malacico delle strutture cartilaginee.

Gli *stent* utilizzati sono numerosi: il più diffuso e impiegato è lo *stent* a T di Montgomery (1965), in materiale siliconato particolarmente maneggevole sia nell'inserimento attraverso la tracheostomia, sia nella sorveglianza dopo l'apposizione (fig. 22). Viene soprattutto impiegato per le stenosi ipoglottiche e della trachea cervicale, dopo dilatazione chirurgica o con laser.

Fig. 22. Tubi a T di Montgomery nelle due misure estreme.

Il tubo di Aboulker (1965) viene utilizzato nelle stenosi che necessitano di un tutore con caratteristiche di maggior rigidità; il materiale di cui è costituito è infatti il Teflon®; l'elemento protesico è connesso a una cannula tracheotomica metallica e le sue caratteristiche non ne consentono l'utilizzazione in ambito pediatrico.

Più recentemente, Traissac (1987) ha proposto, particolarmente per pazienti in età pediatrica, uno *stent* intralaringeo autostatico in Silastic® che viene posizionato per via endoscopica e senza tracheotomia.

Vari altri tipi di *stent* sono stati proposti in letteratura, sempre costituiti da polimeri sintetici, e che possono essere intesi come varianti dei modelli sopra citati.

Il trattamento chirurgico per via esterna delle stenosi laringo-tracheali può essere attuato secondo i seguenti procedimenti:

— ampliamento cricoideo anteriore secondo Cotton (1986);
— laringofissura con ampliamento glottico secondo la tecnica di Rethi e le sue varianti, secondo Aubry e Senechal (1966) (figg. 23 e 24);
— laringo-tracheoplastica secondo Evans (1974);
— laringo-tracheoplastica secondo Fearon e Cotton (1972);
— trasposizione dell'osso ioide con metodica di Alonso Ward (1976);
— epiglottoplastica di Bouche e Freche (1964) e secondo Tucker (1979);





Digitized by Google

Fig. 23. Laringofissura con ampliamento glottico e applicazione di tubo a T di Montgomery.

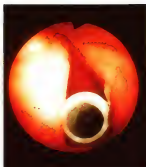



Fig. 24. Laringoscopia per controllare la posizione del tubo a T di Montgomery, che affiora sopra il livello glottico.

— resezione del tratto stenotico della trachea cervicale con anastomosi termino-terminale, previo abbassamento della l. (il metodo consente di asportare un tratto di 4-5 cm di trachea, avendo cura di mantenere l'integrità dei nervi ricorrenti).

Il risultato del trattamento delle stenosi laringo-tracheali è in genere poco soddisfacente; la chiave di un buon risultato sta nell'integrità dell'anello cricoideo: la struttura ipoglottica difficilmente può essere ricostruita nella sua interezza ed elasticità necessarie a preservare il solo anello completo delle vie respiratorie.

**Il laser a $CO_2$ nella microchirurgia endolaringea**

Dopo le prime ricerche sperimentali, a partire dagli anni '70 (Strong e Jako, 1972) è stato impiegato dai laringologi il laser a $CO_2$ (*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*; v. anche LASER*) per la terapia endoscopica di numerose lesioni produttive della l., e si ritiene ormai che costituisca un mezzo indispensabile nella moderna microchirurgia endolaringea; il suo impiego implica la perfetta conoscenza delle metodologie da attuare e delle indicazioni, nonché delle reali possibilità di cura.

Mentre in campo broncologico ed esofagologico si preferisce il neodimio:YAG-laser, che possiede un elevato effetto termico necrotizzante, nel settore laringologico si utilizza il laser a $CO_2$, che presenta le caratteristiche di un maggior assorbimento locale e di una minore dispersione termica, consentendo di raggiungere elevate potenze. I tessuti focalizzati vengono vaporizzati con scarsi fenomeni di necrosi periferica.

Tra i vari tipi di patologia laringea, il laser è stato impiegato nel trattamento di neoformazioni produttive benigne, come polipi e noduli, non offrendo però rilevanti vantaggi rispetto alle metodiche tradizionali. Negli edemi di Reinke (degenerazione polipoide delle corde vocali), il laser consente di eseguire l'intervento in modo più preciso.

L'uso del laser è utile nel trattamento degli edemi del vestibolo laringeo dopo trattamento radiante delle neoplasie.

Nel trattamento della papillomatosi laringea giovanile, il laser a $CO_2$ sicuramente permette di eseguire un'accurata rimozione (vaporizzazione) delle lesioni, senza causare sanguinamento, e consente di ripristinare, nei casi più gravi, la via respiratoria senza la tracheostomia. Il trattamento con laser non evita, tuttavia, la possibilità di recidive.

Anche nelle discheratosi laringee il laser a $CO_2$ trova collocazione perché permette un'accurata escissione con apprezzabili risultati funzionali.

Per quanto concerne l'uso del laser nel trattamento delle forme carcinomatose, AA. con copiose esperienze cliniche (Y. Guerrier) sembrano concordi nell'affermare che l'indicazione deve essere limitata ai piccoli tumori ($T_1$), di una sola corda vocale senza interessamento dell'aritenoide e della commissura anteriore. Si consiglia di eseguire un'exeresi larga con asportazione di tessuto sano.

Altre indicazioni neoplastiche maligne possono essere limitate a piccole lesioni interessanti il bordo libero dell'epiglottide o un'aritenoide.

Un'ulteriore applicazione (Steiner) si pone nelle disostruzioni laringee dei voluminosi tumori, a solo scopo palliativo. Sempre per via endoscopica, con l'aiuto del laser possono essere eseguiti interventi di aritenoidectomia, nelle paralisi in adduzione della l.

Sicuramente però, è nel trattamento delle stenosi che il laser trova le migliori applicazioni in campo laringologico, siano essi diaframmi, sinechie o le forme più complesse laringo-tracheali che, come abbiamo visto precedentemente, richiedono l'utilizzazione di *stent* allo scopo di prevenire le retrazioni cicatriziali che, seppur ridotte, possono insorgere anche dopo un trattamento laser, producendo ulteriori danni iatrogeni.

Per più ampie informazioni sull'impiego del laser in laringologia, si rinvia alla voce LASER*.

**Trattamento multimodale nelle neoplasie della laringe e delle prime vie aerodigestive**

Il trattamento classico delle neoplasie della testa e del collo comprende due caposaldi: la chirurgia e/o la radioterapia. Queste due tecniche spesso curano con successo piccole lesioni neoplastiche, ma raramente si dimostrano realmente efficaci nel dominare neoplasie localmente avanzate.

La chemioterapia si è sicuramente dimostrata efficace nel dominare recidive locali e metastasi dopo il fallimento della terapia primaria (chirurgica o radioterapica). Comunque, benché si possa giungere mediante chemioterapia alla completa remissione della malattia recidivata, lo scopo di questo trattamento, classicamente di seconda linea, è la palliazione, e raramente i risultati sono duraturi nel tempo (Chiuten *et al.*, 1980). Il tumore, dopo un più o meno lungo periodo libero, recidiva, e i pazienti soccombono alla malattia, resa refrattaria a ogni ulteriore terapia.




Digitized by Google

Da tempo è stata dimostrata eterogeneicità clonale all'interno di molte neoplasie (Friedler *et al.*, 1977); questo può spiegare perché farmaci antiblastici che sono inefficaci nella cura di grosse masse tumorali, a volte riescono a sterilizzare rimanenze che rappresentano la malattia residua dopo un intervento chirurgico e/o radioterapico.

Si è stimato che una neoplasia avanzata, nel distretto otorinolaringoiatrico, possa contenere $10^{10}$ cellule (Erwing *et al.*, 1981). Nessuno pensa che la chemioterapia possa curare una simile massa neoplastica, ma è peraltro lecito aspettarsi una riduzione di detta massa almeno per le sottopopolazioni clonali sensibili ai farmaci usati. L'intervento chirurgico avrà quindi migliori possibilità trovandosi a fronteggiare una massa cellulare ridotta.

In teoria, quindi, parrebbe meglio somministrare la chemioterapia *prima* e non dopo il trattamento chirurgico e/o radiante. Le ragioni di questo tipo di trattamento terapeutico, detto «chemioterapia induttiva», si possono riassumere, secondo Hong e Bromer (1983), in 4 punti:

1) poiché sia la chirurgia che la chemioterapia compromettono l'afflusso ematico alla neoplasia, pare meglio far giungere il farmaco alla lesione, somministrandolo quale terapia iniziale e non finale;

2) una citoriduzione preoperatoria può permettere una migliore e più efficace resezione chirurgica della massa;

3) vi sarà miglior tolleranza alla radioterapia se questa viene praticata precocemente a soggetti con nutrizione e *performance status* normali o quanto meno poco compromessi;

4) la eliminazione delle micrometastasi può esitare in un migliore e più protratto periodo di sopravvivenza libero dalla malattia.

Molti studi clinici hanno dimostrato che la risposta alla chemioterapia è migliore in pazienti non precedentemente trattati che in pazienti già sottoposti a chirurgia e/o radioterapia. Price *et al.*, già nel 1978, in uno studio randomizzato hanno dimostrato quanto sopra riferito; è doveroso tuttavia ricordare che non tutti gli studi pubblicati concordano con queste conclusioni, soprattutto per quanto attiene alla sopravvivenza media.

Appare quindi giustificato oggi un trattamento combinato delle neoplasie avanzate della l. e del collo, trattamento multidisciplinare che dovrà coinvolgere l'oncologo medico, il chirurgo e il radioterapista. Essi dovranno agire di concerto, per cui il paziente andrà valutato collegialmente prima di iniziare ogni tipo di terapia, per stabilire un piano operativo che potrà essere di indirizzo duplice o addirittura tridisciplinare.

È poi necessaria la definizione della operabilità del paziente, che deve essere giudicata prima della chemioterapia, perché i limiti dell'intervento chirurgico, anche dopo un'auspicabile remissione completa, dovranno essere quelli stabiliti alla prima visita. Allo stesso modo, un paziente giudicato inoperabile, anche dopo un buon esito della chemioterapia, difficilmente potrà rientrare nei casi operabili, e dovrà giovarsi solo della radioterapia e non dell'opera del chirurgo.

Il protocollo terapeutico ancora maggiormente usato in chemioterapia di induzione è quello proposto dal gruppo della Wayne State University. Questi AA. (Decker *et al.*, 1983) riportano una percentuale di risposta globale del 94%, ripartita in 28% risposta parziale, e 66% risposta completa.

I farmaci usati sono il cisplatino (CDDP) e il 5-fluorouracile (5-FU), con dosaggi così ripartiti:

I giorno: CDDP 100 $mg/m^2$;

II, III, IV, V e VI giorno: 5-FU 100 $mg/m^2$ in infusione continua.

Il ciclo va ripetuto ogni 21 giorni e, se possibile (gli impedimenti sono rappresentati dalla tossicità dei farmaci impiegati), per un totale di 4 volte.

**Il metodo protesico-chirurgico per la riabilitazione fonetica del laringectomizzato**

La voce esofagea, che permette al laringectomizzato di esprimersi con chiarezza, rappresenta quanto di meglio si possa offrire a chi è stato sottoposto, a causa della neoplasia, all'asportazione della l.

Non tutti riescono però a supplire in tal modo alla grave mutilazione da cui sono stati colpiti. Per varie ragioni (anatomiche, funzionali, psicologiche) in alcuni casi il recupero della voce non è possibile.

D'altra parte, anche la voce esofagea presenta dei limiti, soprattutto dovuti alla piccola riserva d'aria che il laringectomizzato può utilizzare per emettere il suono vocale, per cui il flusso vocale viene ripetutamente interrotto per recuperare la riserva d'aria gastroesofagea necessaria all'emissione del suono. Per rendere possibile la riabilitazione di coloro che non hanno potuto apprendere l'uso della voce esofagea, e per aiutare chi è troppo spesso costretto a interrompere la fonazione, è stato introdotto da Singer, Blom e Hamaker (1981) un procedimento che utilizza una valvola che viene posta tra la trachea e l'esofago superiore. La piccola incisione è eseguita sulla guida del tubo esofagoscopico, incidendo la parete tracheale posteriore subito sotto il tracheostoma e la parete anteriore dell'esofago. Un tubo di circa 4 mm di diametro che termina a valvola, viene inserito, a tenuta, nella piccola apertura. Esso ha una duplice funzione: mantenere aperta la fistola e consentire il passaggio dell'aria nell'esofago quando il paziente chiude il tracheostoma con un dito ed espira. La voce è generata dalla giunzione faringo-esofagea come voce esofagea. La quantità d'aria utilizzabile per la fonazione è notevolmente maggiore.

I vantaggi sono che la voce è immediatamente disponibile dopo l'intervento ed è di qualità fluente. Gli svantaggi sono che una mano è occupata durante la fonazione (ultimamente alcuni accorgimenti tecnici nel fissare la valvola al tracheostoma consentono di parlare senza l'aiuto della mano che chiude il tracheostoma) e che il paziente rimane dipendente dal servizio ospedaliero per rinnovare la valvola ogni 3-4 mesi.

V. PROTESI LARINGEE (XII, 1498).

**Bibliografia**

Chiuten D., Vogl S. E., Kaplan B. H., Greenwald E., *Surg. Gynecol. Obstet.*, 1980, **151**, 659.
Decker D. A., Drelichman A., Jacobs J. *et al.*, *Cancer*, 1983, **51**, 1353.
De Vincentiis M., *Le stenosi laringo-tracheali*, 1989, Editrice Primerano, Roma.
Erving T. J., Karp D. D. *et al.*, *Ann. Otol.*, 1981, **90**, 506.
Friedler I. J., Criple I. J., *Science*, 1977, **197**, 893.
Hong W. K., Bromer R., *N. Engl. J. Med.*, 1983, **308**, 75.
Motta G. jr., *Il trattamento delle stenosi laringo-tracheali mediante il laser a $CO_2$, III giornata di medicina moderna. Roma, 22-10-1988*, 1989, Editrice Primerano, Roma.
Peytral C., *Le laser en ORL*, 1989, Wagram, Paris.
Price L. A., Hill B. T., Calvert A. H. *et al.*, *Oncology*, 1983, **35**, 26.
Singer M. J., Blom E. D., Hamaker R. C., *Annals Otol. Rhin. Laryng.*, 1981, **90** (4), 502.

VINCENZO RICCI

## LARVA MIGRANS

### Definizione

È una sindrome parassitaria causata nell'uomo dalla presenza occasionale e dalla migrazione nei più diversi distretti





Digitized by Google

Fig. 1. *L. m.* cutanea da nematode parassita di animali. (*Osservazione Marangi, Sanguigni et al., 1990*).

di larve di ascaridi, anchilostomi e strongili, parassiti abituali e frequenti di cani, gatti ed altri mammiferi domestici (suini, bovini, etc.) e selvatici. Tali forme parassitarie, pur non trovando nell'organismo umano un ambiente idoneo per il completamento delle varie mute e per la loro maturazione in verme adulto, sono in grado di rimanere vitali per lungo tempo e di migrare attivamente nei tessuti, anche per tratti estesi, causando talora lesioni di elevata gravità.

È possibile annoverare una forma di *larva migrans cutanea* e una forma di *l. m. viscerale*.

***Larva migrans* cutanea**

Indicata anche con il termine inglese *creeping eruption* e già descritta nelle sue grandi linee nella voce ANCHILOSTOMIASI (I, 1788), la *l. m. cutanea* si manifesta prevalentemente nelle zone esposte degli arti (fig. 1), in seguito alla migrazione nello spessore della cute di larve filariformi di 3° stadio, di anchilostomi e di strongili, incapaci di attraversare lo strato germinativo del derma.

Tra i vari agenti etiologici, oltre ad *Ancylostoma braziliense*, più frequentemente segnalato, parassita abituale di cani e gatti, occorre annoverare *A. caninum* e *Uncinaria stenocephala*, largamente diffusi nel cane in Europa, *A. ceylanicum*, parassita di cani, gatti e altri carnivori, *Necator suillus* e *Bunostomum phlebotomum*, parassiti rispettivamente di suini e bovini e, tra gli strongili, *Strongyloides fülleborni*, *S. procyornis* e *S. myopotami*, parassiti rispettivamente di scimmie, procioni e castori.

È opportuno ricordare che una forma di *l. m. cutanea* più o meno persistente può manifestarsi anche durante la penetrazione e la migrazione attraverso la cute di larve di *Necator americanus*, di *A. duodenale* e di *S. stercoralis*, parassiti abituali dell'uomo. In quest'ultimo caso l'affezione si manifesta prevalentemente in soggetti già affetti da strongiloidosi (v. STRONGILOIDOSI, XIV, 1457), in seguito ad autoinfestazione con larve maturate nelle pliche anali, dopo la loro emissione con le feci; le lesioni cutanee, prevalentemente localizzate nella zona anale, in quella lombare e nell'addome, appaiono normalmente molto meno ben definite e scompaiono nell'arco di poche ore, facendo in tal modo individuare la sindrome anche con il termine di *larva currens*.

Segnalata nelle zone più diverse, la *l. m. cutanea* è diffusa prevalentemente in vaste aree tropicali e subtropicali, ove risultano maggiormente colpiti gli agricoltori e i frequentatori di spiagge evidentemente contaminate con feci di animali parassitati.

Nei soggetti colpiti, la presenza delle larve causa l'insorgere di un processo flogistico cutaneo caratterizzato dalla formazione iniziale di papule pruriginose e successivamente da rilievi cutanei serpiginosi, eritematosi e vescicolari, corrispondenti ai tunnel scavati dalle stesse larve durante la loro quotidiana migrazione. La cute lesa e abbandonata va incontro ad un processo riparativo essiccandosi e formando croste; tutta la zona interessata è fortemente pruriginosa e il paziente è costantemente indotto al grattamento, favorendo in tal modo possibili infezioni batteriche secondarie.

Considerata la difficoltà di estrarre e di identificare le larve per lo più localizzate in tratti sempre più avanzati rispetto alle lesioni prodotte, la *diagnosi* è essenzialmente clinica, ma deve comunque essere differenziata rispetto a eventuali casi di loiasi, di dirofilariasi (v. FILARIASI, VI, 1623) e alle varie forme di miasi cutanee (v. MIASI, IX, 1100).

La *terapia* si attua con l'utilizzazione del tiabendazolo, oggi farmaco d'elezione, somministrato in 2 dosi distinte di 25 mg/kg/*die* per 3-4 giorni, con ripetizione del ciclo a distanza di 2 o 3 giorni; il prurito normalmente cessa nell'arco di 24 h e le lesioni cutanee scompaiono in circa 10 giorni. Il farmaco può anche essere utilizzato localmente con l'applicazione quotidiana, per 5-6 giorni, di polvere (0,5 g) disciolta in 5 g di gelatina di petrolio. In alternativa può essere usato il mebendazolo (100 mg per 3 volte al dì, per 7 giorni), risultato anch'esso efficace. Recentemente è stato anche impiegato l'albendazolo (200 mg/*per os*, 2 volte al giorno, per 5 giorni) (Marangi *et al.*, 1990). I sintomi in pazienti particolarmente sofferenti possono essere alleviati con la somministrazione di farmaci antistaminici, antipruriginosi o sedativi.

***Larva migrans* viscerale**

Questa sindrome è essenzialmente legata alla migrazione negli organi interni delle larve del nematode *Toxocara canis* (0,4-0,5 mm × 20 μm) e per questo, molto spesso, ancora oggi, è indicata con il termine *toxocariasi* (v. TOXOCARIASI, XV, 131).

Il quadro che emerge dalle più recenti indagini permette di attuare una sempre più netta distinzione tra le due espressioni cliniche, viscerale e oculare, di questa affezione parassitaria: l'eosinofilia anche elevata (30-50% e oltre), l'incremento talora spiccato della gammaglobulinemia, soprattutto a carico delle IgM ed IgE, la comparsa di isoemoagglutinine anti-A e anti-B o di anticorpi anti-gammaglobuline umane, una spiccata leucocitosi (sino e oltre 100.000/mm³) e ancora l'instaurarsi di febbre, di epatomegalia, linfoadenopatie e l'interessamento polmonare, sono infatti manifestazioni cliniche tipiche della forma viscerale che risultano al contrario per lo più assenti nella forma oculare (tab. I).

Alla data del 1981 i casi di *l. m. viscerale* riportati in tutto il mondo erano circa 1900 e dimostravano il carattere cosmopolita della diffusione; tale stima rappresenta peraltro solo la punta di un *iceberg* se si considera, da un lato, che *screenings* sierologici della popolazione attuati in diverse aree geografiche evidenziano un elevato numero di positività e quindi un'ampia presenza di casi asintomatici e se non si esclude, dall'altro, che diagnosi di allergie da cibo o da farmaci, o di eosinofilia post-infettiva o altro possano eventualmente mascherare casi poco conclamati dell'affezione.

Il problema della diffusione della *l. m. viscerale* è strettamente correlato al grado di inquinamento ambientale causato dall'abbandono e dall'accumulo delle deiezioni dei





Digitized by Google

**TAB. I. QUADRO COMPARATIVO DEI DATI CLINICI E DI LABORATORIO EVENTUALMENTE RISCONTRABILI NELLE ESPRESSIONI CLINICHE, VISCERALE E OCULARE, DELLA *LARVA MIGRANS***

(Ripresa e modificata da Ziakham, 1978)

| | Viscerale | Oculare |
|---|---|---|
| Età prevaleote dei pazienti | 2-3 anni | 3-40 anni |
| Carica parassitaria | 200 o più larve | 10 o rare larve |
| Picacismo | + | – |
| Lesioai oculari | – o rare | + |
| Polmonite | + | – |
| Asma, raatoli | + | – |
| Epatomegalia | + | – |
| Eosinofilia | + o +++ | – o ± |
| Isoagglutiaine anti-A, anti-B | + | – |
| Incremento IgE | + | – o raro |

cani: le uova di *T. canis* infatti, in condizioni ottimali di temperatura e umidità, maturano in circa 3 settimane e rimangono poi infestanti per molti mesi, per cui, in aree continuamente contaminate con feci di cani parassitati, non è raro poter trovare in pochi milligrammi di terreno sino a diverse centinaia di uova infestanti. In tale situazione si rendono quindi possibili sia infestazioni massive, come nel caso di bambini affetti da geofagia, sia infestazioni con poche uova, anche di soggetti adulti.

Infestazioni sperimentali con *T. canis* nelle scimmie hanno dimostrato che le larve del parassita possono vivere a lungo (oltre 10 anni) all'interno dell'ospite paratenico: l'eventualità che una tale situazione si realizzi anche nell'uomo, potrebbe contribuire ad avvalorare l'ipotesi sostenuta da alcuni AA., circa la possibilità, analoga a quella che si riscontra in natura nel cane, di un passaggio transplacentare di larve «risvegliate» in donne gravide precedentemente infestate e la conseguente contaminazione, eventualmente lesiva (ad es.: insorgenza di corioretiniti nel caso di localizzazione oculare), a carico del feto.

In relazione ai possibili agenti etiologici, è importante ricordare che talora forme di *l. m. viscerale* possono essere causate dalla presenza di larve di quegli stessi anchilostomi (*A. braziliense*, *A. caninum*, *A. ceylanicum*), già segnalati precedentemente e ritenuti sino a tempi recenti soltanto potenziali responsabili della forma cutanea; in questi casi le larve riescono invece a superare la barriera del derma e a entrare in circolo, localizzandosi prevalentemente a livello dei polmoni, favorendo eventualmente l'insorgere di una sintomatologia tipicamente respiratoria (infiltrazione infiammatoria, asma, etc.). In questo contesto è d'obbligo infine ricordare che larve di 3° stadio di nematodi appartenenti al genere *Gnathostoma* (prevalentemente *G. spinigerum*) sono in grado nell'uomo di dare luogo a forme sia di *l. m. cutanea* che di *l. m. viscerale* (v. GNATOSTOMIASI, VII, 501), analogamente a quanto può avvenire nel caso di infestazioni con spargani (larve plerocercoidi) di cestodi del genere *Spirometra* (v. SPARGANOSI, XIV, 612) o con larve di trematodi appartenenti al genere *Alaria*, tutte situazioni queste in cui l'uomo si comporta sempre ed essenzialmente come ospite paratenico.

Nella *diagnosi* della *l. m. viscerale*, tra le già citate tecniche immunologiche, vanno anche menzionate l'emoagglutinazione indiretta e i test radioimmunologici per la ricerca delle IgE specifiche; ottimi risultati sono stati inoltre ottenuti utilizzando i test di microprecipitazione su larve congelate di *T. canis* (Matthes e Buchwalder, 1982).

Nella *terapia* attualmente si privilegia l'uso del tiabendazolo con gli stessi dosaggi indicati nel caso della *l. m. cutanea* ma con una durata del trattamento di 5-7 giorni, ripetuto eventualmente per 2 o 3 volte a distanza di 3-4 giorni. Nella localizzazione oculare, nel caso la larva sia ben evidenziabile è consigliato l'intervento di fotocoagulazione.

**Bibliografia**

Beaver P. C., Jung R. C., Cupp E. W., *Clinical Parasitology*, 1984, 9 ed., Lea & Febiger, Philadelphia.
Maasons-Bahr P. C. E., Apted F. C. I., *Monson's Tropical Diseases*, 1982, 18 ed., Bailliere Tindall, London.
Marangi M., Sanguigni S. *et al.*, *Medicina-Riv. EMI*, 1990, **10**, 291.
Matthes H. F., Buchwalder R., *Angew. Parasitol.*, 1982, **23**, 1.
Zinkham W. H., *Am. J. Dis. Child.*, 1978, **132**, 627.

GIANFRANCO BORTOLETTI

## LASER

SOMMARIO GENERALE



### FONDAMENTI FISICI E BIOLOGICI

SOMMARIO







Digitized by Google

## PRINCIPI DEL LASER

### Definizione

Il laser è una sorgente di radiazione elettromagnetica (em) coerente. La parola laser è l'acronimo di *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*. (Poiché il termine laser viene a volte impiegato con significati diversi rispetto all'acronimo soprariportato, non si procederà all'abbreviazione [l.] dell'esponente).

La realizzazione del primo laser è avvenuta nel 1960, quindi relativamente tardi rispetto allo stato avanzato delle conoscenze dei principi fisici su cui esso si basa. L'emissione stimolata di radiazione elettromagnetica era stata infatti prevista da Einstein già nel 1917. La ragione del ritardo risiede nella difficoltà di osservare i processi di emissione stimolata nella banda spettrale delle frequenze ottiche, dove le sorgenti tradizionali sono rappresentate da corpi incandescenti e/o da scariche elettriche nei gas. Alle basse frequenze (microonde) l'emissione stimolata è, al contrario, un processo vistoso: le sorgenti a microonde sono state, però, sviluppate soltanto più recentemente, e rese disponibili per la ricerca dopo la II guerra mondiale. Il maser (m = *microwave*, appunto) ha perciò preceduto il laser.

Illustreremo in quanto segue, in via estremamente sintetica, i principali concetti ehe riguardano il funzionamento del laser.

### Stati energetici

*Atomo isolato*

Gli elettroni in un atomo occupano ben definiti stati o livelli energetici, separati da intervalli (o *gap*) di energia proibiti (quantizzazione).

Transizioni possono avvenire solo tra questi livelli e secondo regole di selezione che limitano il numero di stati accessibili da un dato livello.

Gli elettroni si dispongono in modo da occupare i livelli di energia più bassa e da minimizzare l'energia totale dell'atomo, rispettando il principio di esclusione di Pauli, ehe vieta a due o più elettroni di occupare lo stesso stato quantico.

Nel caso, ideale, di un insieme isolato di atomi non interagenti, tutti gli elettroni di ogni atomo si trovano nella configurazione di energia minima (stato fondamentale).

*Atomi interagenti*

Nel caso reale di un insieme di atomi interagenti tra loro e con altri sistemi esterni, alcuni elettroni acquistano energia sufficiente per spostarsi su livelli superiori, di maggiore energia. I vari atomi non sono, perciò, tutti nello stato fondamentale, bensì distribuiti anche nei livelli più alti. Nella fig. 1, *a* sono mostrati tre livelli atomici alle energie $E_1$, $E_2$, $E_3$. I numeri $N_1$, $N_2$, $N_3$ rappresentano i numeri di occupazione di questi livelli da parte degli atomi.

All'equilibrio termico, il rapporto tra il numero $N_n$ di atomi in un livello $E_n$ ed il numero $N_m$ di atomi in un livello $E_m$ è dato da ($n > m$):

$$N_n/N_m = \exp[-(E_n - E_m)/kT] \qquad (1)$$

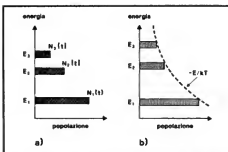



Fig. 1. *a*) I livelli energetici di minor energia sono maggiormente popolati. *b*) All'equilibrio termico il numero di atomi in un livello di energia E è proporzionale a: exp(−E/kT) (*curva tratteggiata*).

dove:
k = costante di Boltzmann
T = temperatura assoluta
e = base dei logaritmi naturali

Per T = 300 K (temperatura ambiente) kT vale 1/40 eV. Poiché è $E_n > E_m$, il rapporto (1) è minore di 1.

Nella fig. 1, *b* la curva tratteggiata rappresenta il rapporto $N_n/N_m$ all'equilibrio termico, dato dalla (1).

### I fotoni

L'interazione elettromagnetica, ovvero la forza che si esercita tra le cariche elettriche, è «mediata» dai «fotoni», ehe rappresentano i «quanti» del campo elettromagnetico.

La forza repulsiva tra due elettroni (o attrattiva tra un elettrone ed un positrone) si attua attraverso lo scambio continuo di fotoni da un elettrone all'altro. Di questi fotoni si osserva solo l'effetto indiretto sulle cariche (fotoni virtuali).

La fig. 2 mostra schematicamente l'interazione tra due elettroni, rappresentati da due segmenti rettilinei: lo scambio del fotone (linea ondulata) produce l'interazione, che causa il brusco cambio di direzione delle traiettorie. Questo processo di emissione/assorbimento avviene continuamente, sì che la traiettoria risulta una curva continua (iperbole).

L'energia di un fotone di frequenza ν vale:

$$E = h\nu$$

con h = costante di Planck. Alle frequenze ottiche, hν vale alcuni eV.

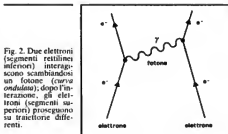



Fig. 2. Due elettroni (segmenti rettilinei inferiori) interagiscono scambiandosi un fotone (*curva ondulata*); dopo l'interazione, gli elettroni (segmenti superiori) proseguono su traiettorie differenti.




Digitized by Google

Le cariche elettriche possono, quindi, assorbire ed emettere fotoni. In questi processi si devono conservare globalmente: energia, quantità di moto, momento della quantità di moto, etc.

A livello microscopico è possibile violare la conservazione dell'energia per una quantità $\Delta E$ solo se ciò avviene in un intervallo di tempo molto piccolo, $\Delta t$, legato, per il «principio di indeterminazione», all'entità della violazione $\Delta E$ dalla relazione:

$$\Delta t = h/\Delta E.$$

Nel caso di un elettrone isolato che emette uo fotone di frequenza $\nu$, $\Delta E$ vale $h\nu$. Perciò l'elettrone deve riassorbire il fotone in un tempo

$\Delta t = h/h\nu = 1/\nu = T$ = periodo di oscillazione del campo elettromagnetico

(circa $10^{-15} - 10^{-14}$ s alle frequenze ottiche).

**Interazione atomo-campo elettromagnetico**

Illustriamo brevemente i principali processi di interazione tra atomo e campo elettromagnetico, che sono alla base dell'azione laser.

*Emissione spontanea*

In realtà, anche nello spazio vuoto un atomo è sottoposto all'interazione elettromagnetica. Infatti, sempre per il principio di indeterminazione, uo fotone può essere creato purché scompaia dopo un tempo inversamente proporzionale alla sua energia. Questi fotoni «virtuali» interagiscono con gli elettroni dell'atomo, stimolandoli a lasciare i propri stati energetici per scendere a stati energeticamente più bassi.

Pertanto, un elettrone rimane in uno stato eccitato soltanto un tempo «medio» $\tau$ (vita media). Il processo di diseccitazione avviene con l'emissione di un fotone (reale), la cui energia è data dal salto energetico compiuto nella transizione:

$$h\nu = E_n - E_m$$

Questo processo prende il nome di «emissione spontanea».

A causa della vita finita dei livelli energetici, dovuta all'emissione spootanea, l'energia di ogni livello risulta avere un'indeterminazione inversamente proporzionale alla vita media, $\tau$, del livello stesso ($\Delta t = \tau$):

$$\Delta E = h/\tau$$

Il fotone spontaneo avrà quindi un'indeterminazione della propria energia (e frequenza) pari alla somma delle indeterminazioni dei livelli connessi dalla transizione. Lo spettro della radiazione spontanea emessa da un insieme di

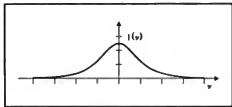



Fig. 3. Riga di emissione (spontanea) di un atomo.

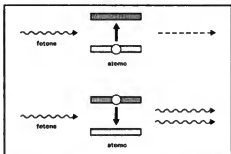



Fig. 4. Il processo di assorbimento è schematizzato con la scomparsa di un fotone e con l'eccitazione dell'atomo ad un livello energetico superiore. Nell'emissione stimolata (*in basso*), il fotone provoca il decadimento dell'atomo dal livello eccitato ad un livello inferiore con la produzione di un fotone identico a quello incidente.

atomi eccitati non è quindi perfettamente monocromatico, ma ha la forma indicata in fig. 3 (riga di emissione).

Alle frequenze ottiche il valore tipico di $\tau$ è circa 10 ns per cui i fotoni spontanei sono distribuiti su una riga larga circa 100 MHz.

Altra caratteristica peculiare dell'emissiooe spontanea è l'isotropia dell'irraggiamento: il fotone, infatti, può essere emesso coo la stessa probabilità in una direzione qualsiasi. Pertanto, un insieme di atomi eccitati irradia fotooi in tutte le direzioni e su uno spettro della forma indicata in fig. 3.

Discutiamo ora due processi che si verificano quando esponiamo un atomo ai fotoni (reali) di un campo elettromagnetico esterno.

*Assorbimento*

Il principio di conservazione dell'energia fa sì che un dato elettrone dell'atomo può assorbire un fotone $h\nu$ solo se l'energia acquisita $h\nu$ lo porta ad un livello con esattameote tale energia in più rispetto al livello di partenza, ovvero:

$$E_m + h\nu = E_n \qquad (n > m)$$

Questo processo si chiama «assorbimento» ed è un processo stimolato dalla presenza del fotone. La probabilità che questo processo avvenga dipende dal numero di fotoni incideoti (potenza del campo) e dal numero di atomi presenti nel livello iniziale $E_m$ della transizione.

*Emissione stimolata*

Con ugual probabilità può avvenire il processo inverso, in cui l'elettrone sceode al livello inferiore $E_m$ emetteodo un fotone di frequenza $\nu$:

$$E_n - h\nu = E_m \qquad (n > m)$$

Questa emissione (stimolata) richiede la perfetta coincidenza dell'energia del fotone incidente coo il salto quantico eoergetico che può compiere l'elettrooe, come oel caso dell'assorbimeoto. Caratteristica peculiare di questo processo è che il fotone stimolato è indistinguibile da quello stimolante (in energia, direzione, polarizzazione, etc.).

Questo processo consente l'«amplificazione» del fotone incidente.

La fig. 4 illustra i due processi di assorbimento (stimolato) e di emissione stimolata.





Digitized by Google

**Effetto laser**

Da quanto precede è chiaro che in un insieme di atomi all'equilibrio termico esposti ad un campo elettromagnetico monocromatico di frequenza $v = (E_2 - E_1)/h$, il numero di fotoni assorbiti per unità di tempo è maggiore del numero di fotoni emessi in via stimolata, essendo la probabilità per i due processi uguale, mentre invece è $N_1 > N_2$. Una radiazione risonante con gli atomi viene, quindi, attenuata nell'attraversare il sistema.

Nella fig. 5 è illustrato il processo di attenuazione che subisce un fascio di radiazione nell'incontrare un sistema di atomi in equilibrio termico: l'assorbimento predomina sull'emissione stimolata (oltre a quest'ultima vi è anche l'emissione spontanea, qui trascurata per semplicità).

*Inversione di popolazione*

Per ottenere amplificazione dal sistema di atomi bisogna invertire la popolazione relativamente ai due livelli considerati.

L'inversione viene effettuata con un opportuno meccanismo di eccitazione (pompaggio) degli elettroni dal livello fondamentale ai livelli più elevati.

La fig. 6 mostra uno schema di pompaggio che trasferisce atomi dallo stato fondamentale ($E_0$) allo stato eccitato $E_3$: da qui per decadimenti radiativi e non, l'elettrone «scende» al livello $E_2$.

Questo «popolamento» artificiale del livello $E_2$ può condurre all'«inversione» di popolazione nei confronti di un livello sottostante $E_1$. In questo caso, un fascio di radiazione che incontra il sistema atomico così «pompato» viene «amplificato» poiché ora il numero di fotoni emessi è maggiore di quelli assorbiti (essendo $N_2 > N_1$).

Nella fig. 7 è illustrato il processo di amplificazione che subisce un fascio di radiazione nell'incontrare un sistema di atomi fuori equilibrio termico: l'emissione stimolata predomina sull'assorbimento.

*Amplificazione a catena*

Poiché l'emissione stimolata ha una probabilità che cresce con il numero di fotoni presenti, è necessario che i fotoni emessi via via per emissione stimolata incontrino altri atomi eccitati: il mezzo atomico deve perciò avere una direzione privilegiata lungo la quale la probabilità d'incontro di atomi eccitati sia massima. Si è scelto, così, per il mezzo laser la forma cilindrica con grande rapporto lunghezza/diametro. L'amplificazione di un fotone che viaggi lungo l'asse (z) del mezzo invertito avviene con un processo a catena. In termini di intensità, poiché nell'attraversamento di uno spessore infinitesimo dz di mezzo attivo l'incremento dI dell'intensità I(z) nel punto z è proporzionale al prodotto I(z)dz, l'intensità del fascio ottico all'uscita del mezzo laser di lunghezza L è:

$$I = I(0) \exp(\alpha L) = g\, I(0) \quad (2)$$

dove I(0) rappresenta il valore dell'intensità all'ingresso del

Fig. 6. Schema di pompaggio per la produzione dell'inversione di popolazione.

mezzo attivo e α rappresenta il «guadagno lineare» del mezzo laser.

Il guadagno α dipende dalle caratteristiche del sistema atomico ed è proporzionale alla inversione di popolazione, $N_2 - N_1$, tra i livelli 2 e 1 tra cui avviene l'emissione laser. Tale guadagno non dipende dall'intensità laser solo per intensità relativamente basse, e diminuisce sensibilmente quando l'intensità del segnale laser supera un certo valore («saturazione»).

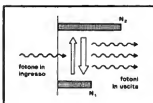
Il fattore g prende invece il nome di «guadagno» (per passo): esso dipende esponenzialmente dal prodotto $(N_2 - N_1)L$.

*Oscillatore laser*

La situazione sopra descritta illustra il comportamento di un «amplificatore» laser. Per poter disporre di un «oscillatore» laser, ovvero di un dispositivo che generi un fascio di radiazione coerente senza alcun segnale di ingresso, dovremo porre il mezzo attivo in una «cavità» che consenta l'instaurarsi di un segnale laser stabile, autosostenuto.

Fig. 5. Un fascio di fotoni di energia $hv = E_2 - E_1$ viene attenuato attraversando un insieme di atomi in equilibrio termico.

Fig. 7. Un fascio di fotoni di energia $hv = E_2 - E_1$ viene amplificato attraversando un insieme di atomi fuori equilibrio termico, con inversione di popolazione tra i livelli $E_1$ e $E_2$.

Digitized by Google

In realtà l'innesco dell'oscillazione laser avviene tramite l'amplificazione del rumore ottico spontaneo presente nel mezzo laser a seguito dell'emissione spontanea.

Tutto inizia con l'emissione di un fotone spontaneo. Se questo va entro un piccolo cono lungo l'asse del mezzo laser, la probabilità d'incontro di atomi eccitati sarà massima; i fotoni stimolati saranno a lui identici, così che il fascetto iniziale monofotonico si intensificherà rapidamente. All'uscita del mezzo laser l'intensità del fascio sarà data dalla (2), dove ora I(0) rappresenta l'intensità del fotone spontaneo iniziale.

Il rumore spontaneo amplificato in un singolo passo nel mezzo attivo prende il nome di «superfluorescenza». La superfluorescenza può avere elevata intensità, buone qualità direzionali e spettrali, ma sempre notevolmente inferiori a quelle laser.

Per ottenere l'oscillazione laser è necessario che il fascio laser passi molte volte attraverso il mezzo attivo, in modo da sfruttare completamente l'eccitazione immagazzinata nel materiale, ed ottenere così un segnale laser stabile, di elevata intensità e coerenza. Si ricorre così alla «cavità ottica» (o risonatore ottico).

*Cavità ottica*

La cavità è usualmente costituita da due specchi sferici, posti coassialmente come illustrato in fig. 8. Uno dei due specchi è reso totalmente riflettente, mentre l'altro è parzialmente riflettente al fine di consentire l'estrazione della radiazione laser dalla cavità. L'amplificazione subita in ogni transito nel materiale deve compensare le perdite intrinseche della cavità, incluse quelle di accoppiamento esterno degli specchi.

Se all'ingresso, sinistro, del mezzo laser l'intensità è I, all'uscita dal mezzo laser l'intensità è gI. Dopo la riflessione sullo specchio, destro, l'intensità è RgI e dopo un ulteriore passaggio nel mezzo laser essa diventa gRgI. La riflessione sullo specchio sinistro rinvia verso il mezzo laser un'intensità I' = R'gRgI. Affinché l'intensità del fascio laser sia stazionaria nella cavità (e quindi anche all'esterno) è necessario che sia I' = I, ovvero:

$$R' R g^2 = 1$$

Questa condizione è detta di «soglia», perché per avere l'innesco dell'azione laser il guadagno g del laser deve compensare le perdite per trasmissione della cavità.

**Coerenza**

La differenza principale tra radiazione laser e radiazione «termica», ovvero quella generata dai corpi incandescenti o dalle lampade a scarica e fluorescenti («neon»), risiede nel meccanismo di generazione della radiazione stessa.

Nel caso della radiazione «termica» il meccanismo dominante è l'emissione spontanea, che è un processo tipicamente incoerente, in cui ogni atomo si diseccita in maniera completamente indipendente da quello degli altri: l'emissione è isotropa nello spazio, ed avviene su tutta la banda di emissione del sistema atomico.

La fig. 9 mostra l'emissione da parte di un mezzo materiale eccitato a «basso» pompaggio: l'emissione è prevalentemente spontanea, poiché il guadagno risulta in questo caso insufficiente a produrre azione laser.

Nel caso del laser l'emissione dei fotoni avviene tramite l'emissione stimolata, che è un processo «coerente»: in questo caso tutte le emissioni da parte dei vari atomi sono strettamente correlate tra loro in virtù del campo elettromagnetico stimolante. La radiazione complessiva che ne risulta ha le caratteristiche di monocromaticità e direzionalità proprie della coerenza.

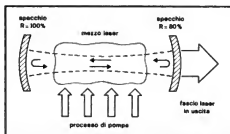



Fig. 8. Schema di un oscillatore laser. La radiazione amplificata nel mezzo attivo viene riflessa dagli specchi e riattraversa il mezzo laser: la nuova amplificazione compensa la perdita per trasmissione avvenuta allo specchio.

La fig. 10 mostra l'amplificazione del campo laser in un transito nel mezzo attivo: gli atomi stimolati emettono in fase tra loro e con il campo incidente. L'emissione spontanea, non rappresentata in figura, è sempre presente: essa costituisce il rumore intrinseco del laser, che può essere comunque ridotto a livelli estremamente bassi.

*Direzionalità*

Il fascio laser in uscita dalla cavità risulta estremamente collimato in virtù delle proprietà di direzionalità dell'emissione stimolata. Ciò consente di focalizzare il fascio laser su diametri focali estremamente ridotti con, quindi, elevatissima densità di potenza.

*Monocromaticità*

Per quanto riguarda la purezza spettrale (monocromaticità) della radiazione laser, si osservi che, mentre l'emissione

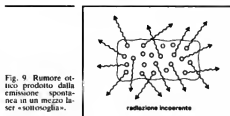



Fig. 9. Rumore ottico prodotto dalla emissione spontanea in un mezzo laser «sottosoglia».

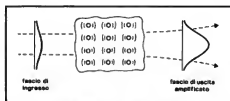



Fig. 10. Nell'emissione stimolata il campo incidente correla tutte le emissioni stimolate degli atomi eccitati, producendo un segnale coerente amplificato.





Digitized by Google

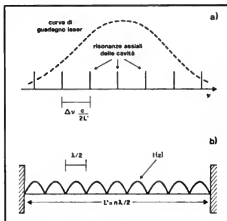



Fig. 11. *a*) Righe di risonanza della cavità, separate in frequenza da c/2L' (c = velocità della luce). La *curva tratteggiata* rappresenta il profilo della transizione atomica tra i due livelli che partecipano all'emissione laser (detta anche «curva di guadagno»). *b*) Onda stazionaria di intensità I(z) presente in cavità dovuta all'interferenza costruttiva delle onde viaggianti lungo l'asse ottico nei due sensi opposti, prodotte dalle riflessioni sugli specchi.

stimolata produce fotoni del tutto «identici», e quindi con rigorosamente la medesima frequenza (e direzione), la cavità ottica può sostenere oscillazioni permanenti su un numero di frequenze discrete, che nel dominio spettrale ottico è assai elevato. Lo spettro della radiazione laser risulta, in genere, costituito da numerose righe, molto strette, la cui separazione è inversamente proporzionale alla distanza L' tra gli specchi della cavità.

Queste righe di risonanza della cavità corrispondono, infatti, alle onde «stazionarie» che possono instaurarsi nella cavità. La condizione di interferenza costruttiva tra onda incidente e onda riflessa allo specchio è che la distanza, L', tra gli specchi sia un multiplo intero di mezza lunghezza d'onda: $L' = n\lambda/2$, con n intero e λ lunghezza d'onda della radiazione. Variando n si hanno le varie onde stazionarie (fig. 11).

Il numero di frequenze laser dipende principalmente dalla larghezza della banda di guadagno del mezzo attivo, e quindi dal livello di pompaggio. A bassa potenza di pompaggio è possibile eccitare solo una riga della cavità, per cui la radiazione laser sarà altamente monocromatica. Vi sono varie tecniche che consentono di selezionare una sola risonanza della cavità, in modo da avere intensità e coerenza elevate.

**Laser a tre e a quattro livelli**

Il livello inferiore della transizione laser, $E_1$ (fig. 6), può coincidere con il livello fondamentale $E_0$: in tal caso solo tre livelli sono coinvolti nel processo laser (laser a «tre» livelli). Nel caso più generale in cui il livello $E_1$ è un livello eccitato, il laser si chiama a «quattro» livelli. I laser a tre livelli richiedono in genere maggior potenza di pompaggio, poiché per ottenere l'inversione di popolazione è necessario prima eguagliare le popolazioni dei due livelli laser, con l'eccitazione di un numero molto elevato di atomi. Nello schema a 4 livelli, il livello $E_1$ è usualmente spopolato, e la frazione di atomi da eccitare è assai più piccola.

Sono esempi di laser a quattro livelli i laser ad elio-neon, argon, anidride carbonica, neodimio-YAG; il laser a rubino è, invece, a tre livelli.

**Bibliografia**

Siegman A. E., *Lasers*, 1986, University Science Book, Mill Walley.

RICCARDO PRATESI

## TIPI DI LASER

Illustriamo brevemente i vari tipi di laser di maggior interesse biomedicale. Inizieremo con i laser già consolidati nel campo biomedico, e daremo quindi una concisa descrizione della sorgente laser ancora in fase di sperimentazione o di potenziale interesse biomedico a breve termine.

Lo schema di funzionamento del laser è già stato discusso nel capitolo *principi del laser*. Elementi essenziali sono la cavità ottica, il materiale attivo, e il sistema di pompaggio. Questi elementi cambiano, in genere, da un tipo di laser all'altro, dipendendo dal mezzo attivo impiegato (e dal suo stato di aggregazione: solido, liquido, gassoso) e dalle condizioni di funzionamento richieste per il laser (emissione continua, impulsata, singolo modo longitudinale e trasversale, etc.).

I laser che trovano in campo medico impiego più diffuso e consolidato, sono i laser ad anidride carbonica, ad argon, e a neodimio.

**Laser ad anidride carbonica ($CO_2$)**

*Mezzo attivo.* – Il mezzo laser è costituito da una miscela gassosa di anidride carbonica, azoto ed elio; la specie laser-attiva è l'anidride carbonica. La miscela è contenuta all'interno di un tubo di vetro, alle cui estremità sono applicate delle «finestre» ottiche per permettere alla radiazione laser di attraversare il tubo. In genere le finestre sono inclinate rispetto all'asse del tubo per minimizzare le perdite per riflessione (angolo di Brewster).

*Pompaggio.* – L'eccitazione del mezzo attivo è effettuata tramite scarica elettrica tra due elettrodi posti nel tubo contenente la miscela laser. Gli elettroni della scarica elettrica instaurata nel tubo eccitano le molecole laser-attive per mezzo di collisioni inelastiche. Nel processo di decadimento dagli stati altamente eccitati della molecola si possono realizzare le condizioni di inversione di popolazione tra una o più coppie di livelli, e quindi avere azione laser.

La presenza dell'elio favorisce la stabilità della scarica elettrica; quella dell'azoto è necessaria per avere un elevato guadagno, in quanto vi è un efficiente trasferimento di energia tra le molecole di azoto eccitate dalla scarica a quelle di $CO_2$ nello stato fondamentale. La fig. 12 mostra lo schema di eccitazione di un laser a $CO_2$.

*Caratteristiche.* – La lunghezza d'onda principale è 10,6 μm. Il guadagno è tra i più elevati, circa 10% nei sistemi commerciali per uso medico. In questi sistemi il gas viene fatto fluire longitudinalmente nel tubo laser in modo da garantire il necessario ricambio della miscela degradata dal processo di scarica. La potenza laser risulta circa proporzionale alla lunghezza del tubo (40-80 W/m). Nei laser di minor potenza (< 30 W) il tubo laser è spesso costituito da un capillare di diametro di circa 2 mm, che guida la radiazione laser, producendo una migliore distribuzione spaziale del fascio laser.

*Sistema laser.* – Per l'uso medico la sorgente laser è inserita in un sistema che consente il trasporto a distanza del fascio laser tramite un braccio articolato contenente specchi per la riflessione del fascio, e terminante con una lente di focale appropriata per il focheggiamento della radiazione laser sul tessuto. Non vi è ancora disponibilità di fibre ottiche sufficientemente flessibili e a basse perdite per que-





Digitized by Google

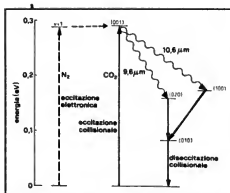



Fig. 12. Schema dei livelli di interesse per l'azione laser in una miscela di $N_2$ e $CO_2$ eccitata per collisione elettronica. Il livello vibrazionale (00t) del $CO_2$ può essere popolato sia per collisione elettronica, sia per collisione con un atomo di $N_2$ eccitato nel primo livello vibrazionale, che è quasi in coincidenza con il livello (00t). Sono indicate le due transizioni laser a 10,6 e 9,6 µm.

sta lunghezza d'onda. Per interventi di microchirurgia il sistema laser è accoppiato al microscopio operatore, con il posizionamento dello *spot* focale effettuato tramite un preciso micromanipolatore. Il laser lavora usualmente in regime di scarica pulsata: le potenze medie per uso medico vanno da 15 a 80 W (sul bersaglio).

*Applicazioni mediche.* – In virtù dell'elevato assorbimento dell'acqua a 10 µm (fig. 13), il laser a $CO_2$ è usato largamente in chirurgia quale strumento di incisione e/o di vaporizzazione. La capacità coagulativa è bassa e l'emostasi è limitata ai vasi con diametro inferiore al millimetro.

**Laser ad argon (Ar)**

*Mezzo attivo.* – Il mezzo laser è costituito da argon a bassa pressione, contenuto in un tubo con finestre di uscita in quarzo. La specie laser-attiva è l'atomo di argon ionizzato una volta ($Ar^+$). L'inversione di popolazione si presenta per numerose coppie di livelli dell'$Ar^+$ e l'emissione del laser ad Ar è solitamente multi-riga (fig. 14).

*Pompaggio.* – La formazione dell'inversione di popolazione nel laser ad Ar richiede una forte eccitazione del gas in modo da formare una notevole densità di atomi ionizzati eccitati. Una corrente elettrica di varie decine di Ar in un tubo capillare (diametro circa 2 mm) realizza queste condizioni. Le caratteristiche tecnologiche del tubo devono, quindi, essere molto sofisticate nei materiali usati, al fine di offrire la necessaria resistenza alle azioni termiche ed erosive dovute alla corrente elettrica. La vita media del tubo è tipicamente di 1000-2000 h (fig. 15).

*Caratteristiche.* – Le righe laser più intense sono la riga a 488 nm (blu) e la riga a 514 nm (verde). Il guadagno è tra i più bassi, e il rendimento è circa 0,1% nei sistemi commerciali per uso medico.

*Sistema laser.* – La radiazione è trasportata sul bersaglio tramite fibra ottica. Per alcune applicazioni mediche è necessario selezionare una sola riga laser, ciò che viene realizzato inserendo nella cavità ottica un prisma, la cui rotazione porta in allineamento con gli specchi una sola riga per volta. Il basso rendimento fa sì che la quasi totalità della potenza elettrica di pompaggio sia trasformata in calore: il sistema è dotato quindi di un notevole impianto di raffreddamento ad acqua, che per i modelli di minor potenza può essere sostituito da uno ad aria. Le potenze laser disponibili nei sistemi medicali vanno da 1 a 20 W.

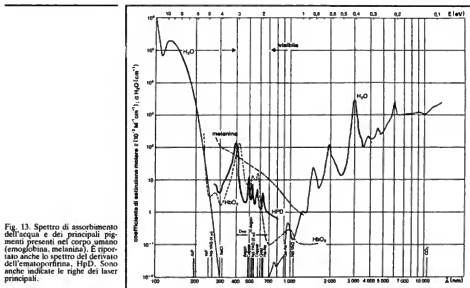



Fig. 13. Spettro di assorbimento dell'acqua e dei principali pigmenti presenti nel corpo umano (emoglobina, melanina). È riportato anche lo spettro del derivato dell'ematoporfirina, HpD. Sono anche indicate le righe dei laser principali.





Digitized by Google

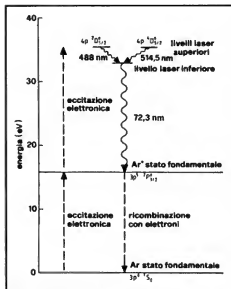



Fig. 14. Livelli energetici dell'Ar⁺. Sono indicate le due transizioni a 488 e 514 nm.

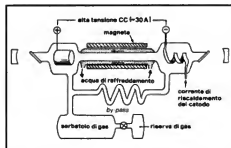



Fig. 15. Schema del laser ad Ar, con indicati i particolari del tubo laser. Il magnete posto coassialmente con il tubo serve a concentrare assialmente la corrente elettrica, aumentando l'inversione e riducendo l'usura delle pareti del capillare. Il raccordo di *bypass* ha la funzione di mantenere l'uniformità di pressione alle due estremità del capillare.

*Applicazioni mediche.* – In virtù dell'elevato assorbimento dei pigmenti presenti nei tessuti biologici (principalmente emoglobina e melanina) nel blu-verde (fig. 13), il laser ad Ar è usato largamente in chirurgia per effettuare fotocoagulazioni di tessuti altamente pigmentati. L'applicazione principale è in campo oftalmologico; assai più limitate, specialmente nei tempi recenti, sono le applicazioni in dermatologia ed in endoscopia gastroenterologica.

**Laser a neodimio: YAG (Nd:YAG)**

*Mezzo attivo.* – Il mezzo laser è costituito da un cristallo di granato di alluminio ed ittrio drogato con neodimio. La specie laser-attiva è lo ione $Nd^{+3}$. L'inversione di popolazione si presenta per alcune coppie di livelli del $Nd^{+3}$ e l'emissione del laser può essere selezionata sulla riga desiderata con una scelta opportuna della riflettività degli specchi. Il cristallo laser è in forma di barretta cilindrica, 6-8 mm in diametro e 10 cm circa in lunghezza.

*Pompaggio.* – Lo ione $Nd^{+3}$ presenta ampie bande di assorbimento nel visibile (rosso), che sono utilizzate per eccitare otticamente gli ioni laser-attivi utilizzando lampade *flash* di alta potenza. L'uso di un riflettore ellittico permette di focheggiare efficientemente la radiazione della lampada sulla bacchetta laser.

*Caratteristiche.* – L'emissione principale avviene a 1064 nm. Il rendimento ha un valore intermedio tra quello del laser a $CO_2$ e quello del laser ad Ar⁺, pari a circa 1% nei sistemi commerciali per uso medico.

*Sistema laser.* – La radiazione è trasportata sul bersaglio tramite fibra ottica. Il basso rendimento fa sì che buona parte della potenza elettrica di pompaggio sia trasformata in calore: il sistema è dotato quindi di un impianto di raffreddamento ad acqua. Le potenze laser disponibili nei sistemi medicali sono di circa 100 W. Sono disponibili laser operanti anche a 1320 nm: sebbene la potenza laser sia circa un terzo di quella del laser a 1064 nm, il maggior assorbimento dell'acqua (circa un fattore 10) rende questo laser d'interesse medico per le maggiori capacità di taglio.

*Applicazioni mediche.* – In virtù del basso assorbimento dei pigmenti corporei e dell'acqua alla lunghezza d'onda di emissione del laser a Nd:YAG, la radiazione laser penetra sensibilmente nei tessuti corporei, ove è sottoposta ad un forte processo di *scattering* dovuto alle disomogeneità del mezzo biologico. Lo *scattering* fa sì che un fascio laser collimato incidente sul tessuto diventi rapidamente diffuso in tutte le direzioni dopo un breve percorso nel tessuto. Ciò viene sfruttato nelle applicazioni mediche per irradiare volumi di tessuto ben maggiori di quelli interessati dal fascio collimato.

L'elevata capacità penetrativa della radiazione a 1064 nm nei tessuti rende il laser a Nd:YAG un cattivo strumento di taglio e un buon dispositivo per produrre necrosi coagulative e/o per la vaporizzazione di ampie masse patologiche. L'ampia diffusione presente in profondità nei tessuti richiede molta cautela per il controllo del riscaldamento prodotto, e quindi dei danni termici associati.

Le applicazioni principali riguardano la fotocoagulazione endoscopica in broncologia e gastroenterologia. In oftalmologia il laser Nd:YAG trova impiego quale fotocoagulatore retinico, in particolare per via transclerale, e a livello ben più ampio, mediante il funzionamento a «Q-switch» (o a impulsi «giganti»), quale «fotoresettore» in varie patologie del segmento anteriore dell'occhio (v. FOTOCOAGULAZIONE*; v. sotto: *laser in oculistica*, col. 4355).

**Laser a colorante organico (Dye Laser)**

Descriviamo ora brevemente i vari tipi di laser che trovano ancora un limitato impiego in campo medico per la complessità ed il costo del sistema e/o per la limitatezza dei dati biomedici oggi disponibili e dello sviluppo tecnologico del sistema.

*Mezzo attivo.* – Il mezzo laser è costituito in questo caso da una soluzione liquida contenente un particolare pigmento (per es.: rodamina, cumarina, fluorescina, etc). Ogni pigmento ha caratteristici spettri di assorbimento e di fluorescenza, e gli attuali coloranti laser consentono l'emissione dall'U.V. al NIR (*near-infrared*).





Digitized by Google

Fig. 16. Schema di un laser a colorante organico pompato da un laser ad argon. Il fascio laser di pompa è focheggiato tramite un sistema lente (non mostrata) /specchio sulla lamina liquida di colorante che fuoriesce dall'ugello. La cavità ottica del laser a colorante è costituita da tre specchi, in modo da poter inserire in cavità anche l'elemento di selezione della frequenza di emissione.

*Pompaggio.* – I coloranti organici presentano bande di assorbimento molto ampie (varie centinaia di nm), che rendono possibile un efficiente pompaggio ottico, sia con lampade *flash*, che con laser. Nel caso di pompaggio con lampada *flash* la soluzione di colorante è contenuta in una cella cilindrica, come nel caso del laser a gas, ove viene fatta circolare rapidamente per dissipare il calore generato nel pompaggio. Nel caso di pompaggio laser, molto più diffuso, il colorante viene fatto fuoriuscire ad alta velocità da un ugello, in modo da formare una lamina liquida, come illustrato in fig. 16. Questa geometria di pompaggio è impiegata con i laser a ioni (argon, cripton), a vapori metallici, e con il laser a Nd:YAG duplicato in frequenza. Nel caso di eccitazione con laser U.V., viene impiegata una piccola cella con liquido fermo o in circolazione più lenta.

*Caratteristiche.* – L'emissione fluorescente su larga banda dei coloranti organici in soluzione permette di variare con continuità la lunghezza d'onda di emissione laser entro un ampio intervallo spettrale. A tal fine, nella cavità ottica vengono inseriti elementi disperdenti la radiazione, quali prismi o reticoli di diffrazione, o filtri, come illustrato in fig. 16. L'accordabilità in frequenza è una caratteristica molto importante, che consente di rendere più selettiva l'azione laser nelle applicazioni mediche. Il guadagno dei coloranti organici è usualmente elevato, ma il rendimento elettricoottico dell'intero sistema laser risulta alquanto basso a causa del basso rendimento delle sorgenti di pompaggio.

*Sistema laser.* – La radiazione laser è usualmente trasportata sul bersaglio tramite fibra ottica. Il basso rendimento complessivo richiede un adeguato impianto di raffreddamento. Le potenze laser disponibili nei sistemi medicali sono di 1-10 W.

*Applicazioni mediche.* – I laser a colorante con emissione nel visibile trovano applicazioni, per ora limitate, in alcuni settori molto specifici, quali la terapia fotodinamica dei tumori (laser a rodamina B, con emissione nel rosso, in particolare a 630 nm), la terapia di alcuni disordini cutanei con fotolisi selettiva (laser a rodamina 6G, accordato a 577 nm, picco di assorbimento secondario dell'emoglobina), il trattamento di patologie della zona maculare nella retina (laser a rodamina B), etc. Recentemente i laser a colorante con pompaggio a lampada *flash* (che generano impulsi di radiazione molto potenti) hanno trovato applicazione nella fotodistruzione endoscopica di calcoli. Il campo di applicazione rimane, comunque, limitato a causa dell'elevato costo di questi sistemi e della necessità di una manutenzione frequente e complessa.

**Laser ad alogenuri di gas nobile («excimers»; laser a «eccimeri»)**

*Mezzo attivo.* – Il mezzo laser è una miscela gassosa di un alogeno e di un gas nobile, e di elio. L'eccitazione della miscela con una scarica elettrica produce l'eccitazione del gas nobile e la susseguente formazione di una molecola di alogenuro di gas nobile (*excited dimer* = «*excimer*»), che risulta instabile: nella diseccitazione, radiativa, la molecola emette radiazione U.V., e si scinde nei componenti atomici di partenza. Il processo può ripetersi, per cui è possibile ottenere emissione laser in regime impulsato. Le coppie alogeno-gas nobile più note sono: KrF, XeCl, ArF, con emissione a 249, 308, 193 nm, rispettivamente.

*Pompaggio.* – Il pompaggio è effettuato tramite scarica elettrica in una miscela gassosa a pressione prossima a quella atmosferica. L'instaurarsi di una scarica omogenea tra gli elettrodi (in modo da avere una efficiente azione laser in tutto il volume del gas) a pressione elevata richiede un accurato schema di preionizzazione del gas e di sagomatura degli elettrodi. La scarica è impulsata, e il tempo di salita deve essere molto breve in modo da accumulare nel livello laser superiore un numero elevato di molecole, senza che il decadimento spontaneo riduca troppo questo valore. La scarica avviene, perciò, perpendicolarmente all'asse della cavità ottica del laser, in modo da ridurre la separazione tra gli elettrodi ed il tempo di salita della scarica.

*Caratteristiche.* – I laser a «eccimeri» hanno funzionamento impulsato e rendimento alquanto elevato (1-2% nei sistemi commerciali). La vita media della miscela è limitata da varie cause di inquinamento del gas, e deve essere sostituita periodicamente. Per ottenere una potenza media laser adeguata alle applicazioni, la frequenza di ripetizione della scarica deve essere sufficientemente elevata: ciò richiede a sua volta un ricambio rapido della miscela tra gli elettrodi affinché il riscaldamento della miscela prodotto dalla scarica non deformi il cammino ottico in cavità, con riduzione conseguente dell'emissione laser. Tale circolazione è realizzata con opportune ventole inserite all'interno della cella-laser stessa (fig. 17).

*Sistema laser.* – I sistemi per applicazioni mediche sono dotati di dispositivi di trasporto della radiazione laser a specchi o a fibra ottica. In quest'ultimo caso vi è un limite alla potenza accoppiabile in fibra, in quanto il focheggiamento della radiazione laser sulla faccia di ingresso della fibra può produrre densità di potenza così elevate da danneggiare la fibra stessa. Per aumentare l'energia laser tra-




Digitized by Google

Fig. 17. Fotografia di un sistema laser a XeCl per microchirurgia angioplastica coronarica. (*Per cortesia della società El-En, Firenze*).

sportabile in fibra sono stati sviluppati accorgimenti speciali per allungare la durata dell'impulso laser.

Le energie laser tipicamente disponibili nei sistemi medicali commerciali sono di circa 100 mJ per impulso, con durata di impulso di circa 50 ns.

*Applicazioni mediche.* – I laser a «eccimeri» sono eccellenti dispositivi per produrre la *fotoablazione* (v. sotto, *laser in oftalmologia*) controllata dei tessuti biologici, con danno termico minimo alle zone circostanti l'area focale. Nessun altro laser produce oggi danni termici così ridotti a parità di risultato elinico desiderato. L'uso terapeutico è ancora in fase sperimentale: le applicazioni più interessanti riguardano l'oftalmologia (v. sotto: *laser in oftalmologia*), ove il laser viene impiegato anehe nel rimodellamento della cornea; la chirurgia vascolare, anehe cardiaca, ove il potere fotoablativo degli impulsi U.V. è sfruttato per ricanalizzare arterie ostruite (v. sotto: *laser in cardiochirurgia* [col. 4395]; *laser nel trattamento della arteriopatia periferica* [col. 4398]).

**Laser a vapori metallici**

*Mezzo attivo.* – Il mezzo laser è costituito da vapori metallici. Il vapore è prodotto mediante riscaldamento (circa 1500 °C) del tubo laser ove è contenuta una dose opportuna di metallo. Un gas tampone, quale l'elio, è presente nel tubo in modo da rendere possibile l'innesco della scarica elettrica, che serve a eccitare e, in parte, a riscaldare il vapore.

*Pompaggio.* – Il pompaggio è effettuato tramite scarica elettrica. Varie coppie di livelli atomici vengono invertite, per cui l'azione laser avviene usualmente su varie lunghezze d'onda (fig. 18), che possono essere selezionate, come nel caso dei laser a ioni, con elementi dispersivi in cavità ottica. La fig. 19 mostra alcuni componenti della testa laser.

*Caratteristiche.* – L'emissione laser è di tipo pulsato, ad alta frequenza di ripetizione (1-10 kHz), e avviene nel visibile. Il guadagno è alquanto elevato: nel caso del rame il rendimento complessivo è di 0,5% circa. Rispetto ai laser a ioni, i laser a vapori metallici richiedono una tecnologia meno sofisticata, e sistemi di raffreddamento assai più ridotti, dato che la potenza dissipata nel pompaggio è utilizzata per mantenere elevata la temperatura del tubo laser.

*Sistema laser.* – I sistemi laser a vapori metallici sono apparsi potenziali candidati per la sostituzione dei più complessi laser a ioni (argon e kripton), ma presentano essi stessi attualmente problemi di ingombro, di tempi lunghi per il riscaldamento del tubo, etc., e la loro diffusione è limitata.

*Applicazioni mediche.* – Particolarmente interessanti per

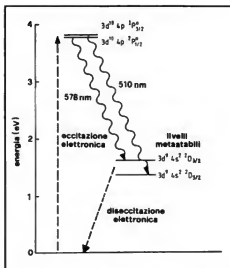
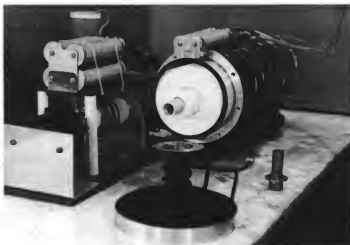



Fig. 18. Schema dei livelli principali del laser a vapori di rame. Sono indicate le due transizioni più intense, a 510 e 578 nm.

Fig. 19. Vista di alcuni particolari della testa laser. Il tubo interno è di allumina pura, molto compatta per il confinamento del vapore metallico; il tubo intermedio è anch'esso in allumina, più porosa: la bassa conducibilità termica dell'allumina permette l'automantenimento dell'elevata temperatura per la vaporizzazione del metallo. Due flange metalliche (di cui una sola è visibile) con finestre ottiche completano il tubo di scarica e costituiscono gli elettrodi. (*Per cortesia di IEQ-CNR, Firenze*).

le applicazioni mediche sono le righe a: 578 nm (giallo, rame), per la fotodermolisi selettiva, e a 628 nm (rosso, oro) per la terapia fotodinamica con ematoporfirina e per la fotocoagulazione retinica maculare. Anche le righe a 312 nm (U.V., oro) e a 723 nm (rosso lontano, manganese) possono rappresentare un'alternativa ai laser ad «eccimeri» e ai laser a colorante.

**Laser a diodo semiconduttore (CLED)**

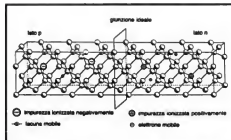
Il principio di funzionamento del laser a diodo semiconduttore è sostanzialmente diverso da quello degli altri laser di interesse medico. Esso è una «lampada» a stato solido coerente, ovvero un LED (*Light Emitting Diode*) coerente, da cui anche l'acronimo CLED (*Coherent LED*). Un diodo semiconduttore è realizzato drogando positivamente (p) e negativamente (n) due parti di un cristallo semiconduttore (fig. 20). L'interfaccia tra zona p e zona n si chiama «giunzione p-n». Nella regione p vi è una carenza di elettroni (nella banda di valenza), o equivalentemente un eccesso di

Fig. 20. Esempio ideale di cristallo semiconduttore drogato con impurezze tipo p e n: il piano indica la separazione tra le due regioni p e n.

«lacune» positive; nella regione n, invece, vi è un eccesso di elettroni (nella banda di conduzione). Applicando una tensione diretta (polo + della batteria connesso con la regione p) gli elettroni fluiscono dalla regione n a quella p; nell'attraversamento della giunzione vi è elevata probabilità che un elettrone decada nella banda di valenza, andando ad occupare una delle lacune presenti in questa banda nella regione p. Nella ricombinazione elettrone-lacuna, l'energia può essere emessa o in forma di calore o di radiazione. Nei LED la ricombinazione avviene con l'emissione di fotoni, la cui energia risulta necessariamente superiore all'energia che separa il livello inferiore della banda di conduzione dal livello superiore della banda di valenza (*gap*). Per molti semiconduttori, quali l'arseniuro di gallio (GaAs), la lunghezza d'onda della radiazione di ricombinazione cade nel vicino infrarosso.

*Mezzo attivo*. – Il diodo laser è una struttura complessa costituita da una zona laser-attiva nella regione della giunzione p-n, immersa in una struttura multistrato costituita da vari semiconduttori con composizione, concentrazione e drogaggio (p-n) diversi (fig. 22). La zona attiva è costituita da un sottilissimo (100-30 nm) strato di materiale semiconduttore (in genere GaAs) posto tra due strati di materiale diverso (in genere AlGaAs).

*Pompaggio*. – Il pompaggio è effettuato iniettando una corrente elettrica nel diodo, a polarizzazione diretta (figg. 21 e 22). La presenza dei vari strati adiacenti allo strato attivo permette il confinamento in una stretta regione (5-100 μm), sia della corrente elettrica iniettata nel diodo, che del fascio laser, in direzione parallela e perpendicolare al piano della giunzione.

*Caratteristiche*. – Il guadagno di un CLED è incredibilmente alto, sì da permettere rendimenti di conversione di potenza elettrica in potenza ottica superiori al 50%. CLED di dimensioni submillimetriche sono oggi in grado di generare potenze laser di vari watt continui. Strutture integrate contenenti decine o centinaia di diodi laser possono produrre fino a 100 W di potenza laser in funzionamento continuo, mantenendo le caratteristiche di miniaturizzazione di questo tipo di laser. I CLED di maggior potenza sono a GaAs, ed emettono quindi tra 780 e 850 nm. Altri materiali semiconduttori sono in fase di sviluppo per estendere lo spettro emesso dai CLED a tutto il visibile. Potenze laser di alcuni mW sono già disponibili alla lunghezza d'onda di 630 nm (quella del laser a elio-neon).





Digitized by Google

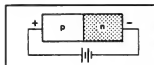



Fig. 21. Diodo semiconduttore con polarizzazione diretta.

tutta la radiazione monocromatica del CLED è utilizzata per il pompaggio, potendosi sintonizzare l'uscita del CLED su un picco di assorbimento del cristallo; 2) le piccole dimensioni dei *chip*-laser permettono la realizzazione di laser ultra compatti (dimensioni tipiche: 5 cm); 3) i componenti, tutti a stato solido, di questi laser, consentono un funzionamento assai più affidabile dei modelli tradizionali.

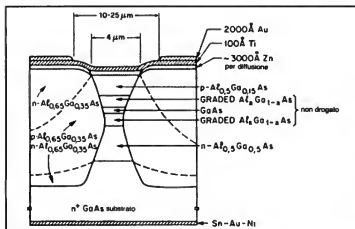



Fig. 22. Sezione di una struttura laser a diodo. La corrente elettrica viene iniettata in direzione perpendicolare alla struttura planare; essa trova un confinamento laterale dovuto alla presenza di materiale semiconduttore con *gap* maggiore di quella della giunzione. La radiazione laser è generata nel piano contenente la giunzione, perpendicolare al piano della figura; la scelta dei materiali e della struttura è fatta in modo da realizzare una guida ottica, che mantiene confinato il campo laser nelle regioni di alto guadagno.

*Sistema laser.* – La miniaturizzazione di questi laser e l'alto rendimento consentono di realizzare sistemi estremamente compatti, mentre il pompaggio per iniezione elettrica rende il sistema molto affidabile. L'impiego medico dei CLED è oggi dimostrato per la fotocoagulazione retinica, e sono disponibili sistemi molto compatti di fotocoagulatori laser per interventi transpupillari ed endoscopici.

*Applicazioni mediche.* – I CLED hanno notevoli prospettive in medicina, per la sostituzione degli attuali laser ad argon e a Nd:YAG. Un incremento nella potenza dei CLED con emissione nel rosso (650-800) permetterà l'applicazione nella terapia fotodinamica dei tumori con i nuovi fotosensibilizzatori ad alto assorbimento nel rosso. L'accoppiamento delle strutture CLED integrate a fasci di fibre ottiche (fig. 23) permetterà presto la sperimentazione dei CLED a 800 nm nella fotocoagulazione endoscopica di patologie oggi trattate con i laser a Nd:YAG. Altri settori applicativi di potenziale interesse per il CLED, in virtù dei bassi livelli di potenza usati (1-20 W), sono: l'ipertermia laser, la «saldatura» dei tessuti, la chirurgia con la punta di zaffiro, la fotodermolisi selettiva in congiunzione con pigmenti esogeni, etc. CLED di bassa potenza sono da tempo impiegati nella cosiddetta terapia «biostimolante» di svariate patologie ed in trattamenti estetici. Per queste applicazioni non vi sono però basi scientifiche sicure.

**Laser a stato solido con pompaggio a CLED (microlaser)**

Il microlaser (nome introdotto dalla Amoco Laser Corp.) è un laser a stato solido in cui il pompaggio ottico tradizionalmente effettuato con le lampade *flash* è stato sostituito con quello a diodi-laser. Il pompaggio a CLED offre notevoli vantaggi: 1) il rendimento elettrico-ottico dei CLED è notevolmente superiore a quello delle lampade ed inoltre

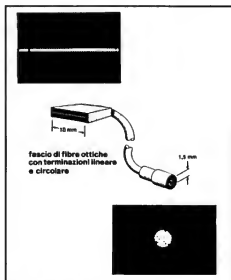



Fig. 23. Dispositivo a fibre ottiche per l'accoppiamento di una sorgente lineare a diodi laser, con estremità a sezione circolare, adatta per impiego endoscopico.





Digitized by Google

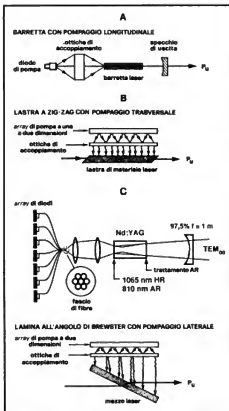



Fig. 24. Schemi di pompaggio nei microlaser. *A*) Pompaggio longitudinale; *B*) pompaggio trasversale con *array* di CLED a 1 o 2 dimensioni; *C*) esempi di geometrie per pompaggio a multi-CLED, separati.

*Mezzo attivo.* – La scelta del mezzo attivo è limitata dai tipi di CLED di potenza oggi disponibili. I cristalli con assorbimento nella banda di emissione dei CLED a GaAs di interesse principale per le applicazioni mediche sono: Nd:YAG (1,06 μm) Nd:YLF (1,06 μm); Ho:YAG (2,1 μm); Er:YAG (2,9 μm).

*Pompaggio.* – Il meccanismo di pompaggio è analogo a quello delle lampade *flash*. Le geometrie di pompaggio sono illustrate in fig. 24. Con il pompaggio «longitudinale» il fascio del CLED è focheggiato lungo l'asse del cristallo, attraverso lo specchio laser, trasparente alla radiazione del CLED. Questo schema consente un buon accoppiamento tra volume pompato e volume laser, con quindi elevato rendimento complessivo, ma la potenza laser estraibile è limitata a circa 10 W (a causa della ancor bassa potenza dei CLED). Il pompaggio «trasversale» permette di accoppiare un numero maggiore di CLED con il cristallo laser, ed ottenere quindi maggiori potenze di uscita, anche se il rendimento totale è più basso, essendo in genere il volume pompato maggiore di quello laser.

*Caratteristiche.* – I microlaser hanno elevate compattezza ed affidabilità, elevato rendimento elettrico-ottico. Il laser più sviluppato è quello a Nd, sia in YLF che in YAG. Le potenze disponibili sono oggi di 1 W a livello commerciale, mentre in laboratorio sono state ottenute potenze molto alte in sistemi pilota per varie applicazioni (inclusa, perfino, la fusione termonucleare). Per la generazione di lunghezze d'onda diverse da quella a 1064 nm del Nd, in attesa dello sviluppo di CLED di potenza operanti su altre bande spettrali, si ricorre oggi ai processi di conversione di frequenza. Microlaser duplicati in frequenza (532 nm) sono disponibili a potenze laser di 0,5 W.

*Sistema laser.* – Non sono ancora stati sviluppati microlaser per uso medico.

*Applicazioni mediche.* - È prevedibile la graduale sostituzione del laser a Nd:YAG tradizionale, nei vari regimi di funzionamento (continuo, a impulsi giganti, duplicazione di frequenza, etc.), ed in seguito l'introduzione dei laser Ho:YAG e Er:YAG per interventi chirurgici selezionati.

**Laser a Ho:YAG**

*Mezzo attivo.* – La specie laser-attiva è lo ione $Ho^{+3}$.

*Pompaggio.* – A lampada *flash*, e recentemente a diodo laser.

*Caratteristiche.* – L'emissione laser può avvenire su varie righe nel vicino IR. D'interesse medico è quella a 2,1 μm.

*Sistema laser.* – È simile a quello del laser a Nd:YAG. Per uso medico esiste una versione combinata con cristalli di Nd e Er, con trasmissione a fibra ottica in quarzo.

*Applicazioni mediche.* – L'assorbimento dell'acqua a 2 μm è intermedio tra quello a 1 e 3 μm. Pertanto questo laser offre un rapporto capacità coagulativa/capacità di taglio intermedio tra quelli del laser a Nd:YAG e a $CO_2$.

**Laser a Er:YAG**

*Mezzo attivo.* – La specie laser-attiva è lo ione $Er^{+3}$, in un cristallo di YAG.

*Pompaggio.* – A lampada *flash*, come per il laser a Nd:YAG. È stato sperimentato con successo anche il pompaggio con diodo-laser-semiconduttore.

*Caratteristiche.* – L'emissione laser avviene su varie righe, nel vicino IR.

*Sistema laser.* – È simile a quello del laser a Nd:YAG; la radiazione laser a 2,9 μm è trasportabile in fibre speciali. Per impiego medico è disponibile un sistema che incorpora tre cristalli intercambiabili (Nd, Ho, Er).

*Applicazioni mediche.* – L'interesse medico risiede nell'elevato valore del coefficiente di assorbimento dell'acqua a 3 μm, che è circa 10 volte superiore a quello a 10 μm. Il laser a Er:YAG è potenzialmente uno strumento di incisione migliore del laser a $CO_2$, ed in regime pulsato può produrre effetti simili a quelli ablativi del laser ad U.V.

**Laser a stato solido accordabili («vibronici»)**

Questa classe di laser è di particolare interesse per l'accordabilità in frequenza. I cristalli oggi disponibili consentono azione laser nel rosso. L'accordabilità in frequenza in un laser a stato solido è ottenibile quando i processi di rilassamento radiativi e non radiativi sono fortemente accoppiati tra loro. Accade, quindi, che l'emissione di un fotone è accompagnata dall'emissione di un fonone (il quanto delle oscillazioni reticolari del cristallo). In questi materiali laser, detti «vibronici», l'energia (e quindi la frequenza) della transizione laser è fissata; essa può, però, essere ripartita tra fotone e fonone con continuità, dando luogo ad un ampio spettro di possibili frequenze laser.

*Mezzo attivo.* – Nella maggior parte dei cristalli vibronici, lo ione attivo è il cromo. I cristalli di maggior interesse sono: l'alessandrite ($Cr^{+3}$:$BeAl_2O$); il titanio:zaffiro ($Ti$:$Al_2O_3$); lo smeraldo (silicato di berillio ed alluminio) drogato con cromo.

*Pompaggio.* – Viene effettuato sia con lampada *flash*, che con laser ad argon.



Digitized by Google

*Caratteristiche.* – Il laser ad alessandrite ha un intervallo di emissione che si estende da 700 a 820 nm. Il Ti:zaffiro è uno dei materiali più promettenti per realizzare laser a stato solido accordabili in frequenza, in quanto presenta uno dei più ampi intervalli di accordabilità, 300 nm, con picco a 800 nm, ed elevato guadagno, circa il 50% del guadagno del Nd:YAG.

*Sistema laser.* – Sono in fase di sviluppo sistemi medicali.

*Applicazioni mediche.* – L'intervallo spettrale di emissione degli attuali laser «vibronici» (rosso) risulta interessante per le applicazioni mediche, dato che in questo intervallo cade la finestra ottica dei tessuti biologici. L'elevata penetrazione, quindi, della radiazione ottica potrà consentire un progresso nella terapia fotodinamica dei tumori in abbinamento con i nuovi fotosensibilizzatori ad alto assorbimento nel rosso. Altre applicazioni in fase sperimentale sono la fotodistruzione di calcoli, la fotodermolisi selettiva di disordini vascolari utilizzando pigmenti esogeni per aumentare il contrasto di assorbimento rispetto al tessuto circostante.

**Bibliografia**

Carruth J. A. S., McKenzie A. L. eds., *Medical Lasers*, 1986, Adam Hilgher, Bristol.
Siegman A. E., *Lasers*, 1986, University Science Book, Mill Walley.

RICCARDO PRATESI

## INTERAZIONE RADIAZIONE LASER-TESSUTI

### Introduzione

L'interazione fra la radiazione elettromagnetica non-ionizzante e i tessuti biologici è in generale determinata da un lato dai processi fisici che governano la cessione di energia da parte della radiazione al tessuto e dall'altro dalla risposta biologica del tessuto stesso.

I processi fotofisici dipendono dalle caratteristiche della radiazione (lunghezza d'onda, durata degli impulsi se la radiazione non è continua, potenza media e potenza istantanea per unità di superficie) e dalle proprietà ottiche del materiale biologico considerato come inerte (tipicamente dal suo spettro di assorbimento della radiazione e dai meccanismi di diseccitazione che seguono il processo di assorbimento).

La risposta biologica dipende invece essenzialmente dalle caratteristiche funzionali e metaboliche del tessuto e più in generale da quelle dell'organismo ospite. Nel caso della radiazione laser, le caratteristiche di coerenza spaziale e temporale determinano l'altissima direzionalità e la monocromaticità del fascio e la possibilità di ottenere emissione impulsata con impulsi di durata estremamente breve (pochi femtosecondi, fs; 1fs = $10^{-15}$s). Tali proprietà consentono di concentrare l'energia su una superficie estremamente piccola (dell'ordine della lunghezza d'onda della radiazione considerata) e, di conseguenza, di ottenere un irraggiamento di intensità particolarmente elevata e spazialmente ben definito. La monocromaticità permette di agire selettivamente sui diversi costituenti tessutali in funzione delle loro caratteristiche di assorbimento. A tale proposito, è opportuno ricordare che i costituenti tessutali che principalmente influenzano l'assorbimento sono l'acqua, l'emoglobina, la melanina e altri pigmenti. L'acqua assorbe la radiazione infrarossa, con spettro piatto oltre i 7 μm; la emoglobina assorbe dall'ultravioletto (U.V.) al rosso (fino a circa 640 nm); la melanina assorbe dall'U.V. al vicino infrarosso con andamento decrescente. Le caratteristiche di assorbimento dei tessuti possono essere alterate per scopi sia terapeutici che diagnostici, utilizzando opportuni traccianti esogeni (ad es., derivati dell'ematoporfirina, fluoresceina, etc.).

Le interazioni radiazione laser-tessuto possono essere suddivise in cinque categorie principali, a seconda del tipo di processo che segue l'assorbimento: si differenziano essenzialmente per la lunghezza d'onda, per la densità di potenza (potenza per unità di superficie) e per le caratteristiche temporali (modo continuo o impulsato, e, nel secondo caso, durata degli impulsi) della radiazione utilizzata.

1) *Interazioni fotofisiche*, nelle quali si sfrutta la monocromaticità del laser per eccitare selettivamente un particolare cromoforo (endogeno o esogeno). Si opera a densità di potenza media molto bassa, in modo da non innescare processi (chimici o di altra natura) che possano indurre danni a livello tessutale e si studiano poi i processi di diseccitazione (radiativi o non radiativi) del cromoforo.

2) *Interazioni fotochimiche*, anch'esse basate sull'uso di laser con lunghezza d'onda corrispondente a specifiche bande di eccitazione di cromofori o di composti fotosensibilizzanti (sia endogeni che esogeni). Il processo di assorbimento è seguito da una serie di reazioni chimiche che modificano il substrato biologico, eventualmente portando a necrosi del tessuto.

3) *Interazioni fototermiche*, dovute alla conversione in calore dell'energia assorbita. Gli effetti di questo tipo di interazioni sono scarsamente specifici. Le caratteristiche della radiazione laser consentono in generale un buon confinamento spaziale del danno termico indotto.

4) *Interazioni fotomeccaniche*, ottenute focalizzando impulsi ultracorti e di potenza di picco molto elevata su volumi molto piccoli. Questo permette di indurre otticamente un fenomeno di *breakdown* (rottura del dielettrico) che genera un'onda d'urto di tipo meccanico.

5) *Interazioni fotoablative*, caratterizzate da una fotodecomposizione dei tessuti ad elevatissimo confinamento spaziale, senza effetto termico, ottenuta utilizzando laser impulsati con emissione nell'ultravioletto.

Il primo tipo di interazione fra quelli sopra elencati è di tipo non distruttivo e trova applicazione, a livello diagnostico, sia nella clinica che nella ricerca di base, mentre gli altri tipi di interazioni citati inducono rilevanti modificazioni nei tessuti biologici e sono generalmente utilizzati, a livello clinico, per scopi terapeutici (distruzione selettiva di tessuti e/o processi di fotocoagulazione).

### Processi fotofisici

La radiazione laser viene utilizzata per scopi diagnostici, in modo non distruttivo. Si sfrutta la monocromaticità del laser per eccitare selettivamente un particolare cromoforo (endogeno o esogeno), che può in alcuni casi agire da marcante di particolari strutture cellulari o da indicatore di caratteristiche funzionali alterate, operando a densità di potenza media sufficientemente bassa da non indurre modificazioni a livello strutturale o funzionale nel tessuto in esame; il cromoforo che ha assorbito la radiazione si disecciterà attraverso processi radiativi (ad es. emissione fluorescente) o non radiativi (ad es. trasferimento di energia ad altro cromoforo). La rilevazione dei meccanismi di diseccitazione del cromoforo in esame permette in genere di ottenere utili informazioni sia sul cromoforo stesso che su eventuali altre sostanze o costituenti cellulari con cui questo interagisca. In alcune situazioni può essere interessante determinare anche l'andamento temporale di tali meccanismi di diseccitazione: poiché si tratta solitamente di dinamiche piuttosto rapide, questo richiederà l'uso di laser impulsati (con impulsi di durata inferiore a quella dei processi da studiare, cioè variabile fra qualche picosecondo [ps, 1 ps = $10^{-12}$s], e qualche nanosecondo [ns, 1 ns = $10^{-9}$s]. Interazioni radiazione laser-tessuto di questo tipo si basano su una fenomenologia puramente fotofisica e trovano applicazioni sia a livello di biologia di base che nella diagno-





Digitized by Google

stica clinica: un tipico esempio è la diagnosi in fluorescenza di tumori con derivato dell'ematoporfirina e lo studio delle proprietà fotofisiche di tale farmaco e dei suoi meccanismi di interazione con il substrato biologico.

La necessità di variare la lunghezza d'onda in funzione del campione da analizzare rende particolarmente adatti a questo tipo di applicazione i laser accordabili, come ad es. i laser a colorante o il laser a titanio in zaffiro (pompati da laser a ioni, quali i laser ad argon o a krypton, o da laser a stato solido, quali il laser a neodimio in YAG duplicato in frequenza), operanti in continua o ad impulsi corti con elevata frequenza di ripetizione (in regime di *mode-locking*) o i laser a colorante pompati da laser ad azoto operanti ad impulsi a bassa frequenza di ripetizione.

**Processi fotochimici**

Nel caso dei processi fotochimici la lunghezza d'onda della radiazione laser è scelta in funzione dello spettro di assorbimento del cromoforo che si vuole eccitare. La densità di potenza richiesta nella maggior parte di queste applicazioni è piuttosto bassa (dell'ordine di 1 W/cm$^2$) e la durata dell'irraggiamento, in genere effettuato con radiazione continua, spesso superiore ai 10 min. Può essere utilizzata anche radiazione impulsata, con impulsi di durata non inferiore a qualche nanosecondo (ns) e densità di potenza media uguale a quella della radiazione continua: in questo caso, la potenza di picco più elevata può determinare l'insorgenza di ipertermia locale, con conseguente parziale modificazione dei meccanismi di interazione laser-tessuto. L'eventuale ipertermia ha talvolta un effetto sinergico con l'azione fotochimica.

Nei processi fotochimici vengono frequentemente utilizzati fotosensibilizzanti esogeni che si localizzano selettivamente in cellule o tessuti bersaglio e agiscono da mediatori del processo. È il caso degli psoraleni nella terapia della *vitiligo* e della psoriasi, delle furocumarine nella terapia della psoriasi e dei derivati dell'ematoporfirina nella terapia fotodinamica dei tumori.

Data la grande varietà di lunghezze d'onda richieste a seconda dell'applicazione (dal vicino ultravioletto al vicino infrarosso) molti sono i laser utilizzati in questo tipo di applicazioni. Fra questi rivestono particolare interesse: *a*) i laser a colorante per la loro accordabilità in lunghezza d'onda, che permette di utilizzare lo stesso laser per più di un cromoforo e soprattutto di sfruttare al meglio la selettività di eccitazione grazie ad una regolazione fine della lunghezza d'onda; *b*) i laser a diodi, con emissione nel rosso e nel vicino infrarosso, per la loro maneggevolezza, affidabilità e facilità d'uso che ne fanno delle sorgenti ideali nella pratica clinica.

**Processi fototermici**

La maggior parte delle applicazioni chirurgiche dei laser, che si tratti di taglio o di emostasi, si basano sulla conversione di energia elettromagnetica in energia termica. La selettività di azione sul tessuto da trattare è in generale raggiunta per semplice confinamento spaziale dell'irraggiamento, in quanto alle lunghezze d'onda utilizzate in questi processi, tipicamente nell'infrarosso, non esiste praticamente nessuna specificità di azione. Il rapido aumento di temperatura che segue l'assorbimento della radiazione da parte del tessuto ha conseguenze diverse sul sistema biologico in funzione della temperatura che viene raggiunta. In particolare, per temperature di 50-60 °C si ha denaturazione delle proteine; a 100 °C l'acqua del tessuto va in ebollizione e di conseguenza il tessuto vaporizza, molto oltre i 100 °C il tessuto viene carbonizzato.

Un calcolo teorico dell'aumento di temperatura risulta molto complesso. Tuttavia, in prima approssimazione, si può supporre che il calore generato per unità di volume sia circa uguale al calore ceduto dallo stesso volume (il calore viene rimosso principalmente per diffusione, evaporazione o effetto di raffreddamento da parte dei vasi sanguigni). Quindi, la grandezza che regola i processi fototermici è la potenza assorbita per unità di volume (P/V). Per valori di P/V sufficientemente bassi la temperatura del tessuto si mantiene inferiore a 100 °C con effetti di tipo fototerapeutico (ad es. fotocoagulazione, laseripertermia). Per valori di P/V sufficientemente elevati, invece, la temperatura del tessuto raggiunge o supera i 100 °C, con conseguente effetto di taglio.

I laser che vengono principalmente impiegati nelle applicazioni basate su processi fototermici sono quelli ad anidride carbonica ($CO_2$) e a neodimio in YAG (Nd:YAG), con emissione nell'infrarosso, e ad argon (Ar), con emissione principale nel visibile.

Il laser a $CO_2$, che emette radiazione infrarossa a 10,6 μm, è quello che consente il miglior effetto di taglio. In effetti, la radiazione a 10,6 μm è fortemente assorbita dall'acqua che la trasforma in calore e la sua profondità di penetrazione nel tessuto è di circa 10 μm. La potenza utilizzata nelle applicazioni chirurgiche è compresa fra 10 e 100 W, con valori di conseguenza molto elevati di potenza per unità di volume. Spostando lungo il tessuto il fascio, questo si comporta come un bisturi, eseguendo un'incisione di diversa profondità in funzione della velocità di spostamento del fascio stesso e della sua intensità. Durante il processo di taglio la temperatura del tessuto rimane costantemente intorno ai 100 °C e la diffusione laterale del calore verso i bordi dell'incisione provoca un danno termico irreversibile all'area circostante per uno spessore di circa 200 μm.

L'effetto cauterizzante sui vasi sanguigni è molto scarso, soprattutto quando si utilizza un fascio altamente focalizzato, perché in questo caso l'effetto di taglio è nettamente predominante. Sfocalizzando parzialmente il fascio è possibile ottenere un'azione emostatica: tuttavia la tipica profondità di penetrazione di 10 μm è troppo piccola per permettere di cauterizzare vasi di diametro superiore a circa 0,5 mm. L'assenza di fibre ottiche in grado di trasportare la radiazione a 10,6 μm esclude l'uso del laser a $CO_2$ in endoscopia, che non sia quella a tubi rigidi. Le principali indicazioni chirurgiche sono invece in microchirurgia (otorinolaringoiatria, neurochirurgia, urologia, ginecologia), in chirurgia oncologica e in chirurgia generale.

La lunghezza d'onda di emissione del laser a Nd:YAG è 1,06 μm, dieci volte minore di quella del laser a $CO_2$. La profondità di penetrazione di tale radiazione nel tessuto è di circa 1 mm. Anche per questo laser le potenze utilizzate sono fra 10 e 100 W, ma la maggior profondità di penetrazione porta a valori di potenza per unità di volume più bassi. L'effetto di taglio è di conseguenza scarso, mentre l'effetto emostatico è molto buono. Il laser a Nd:YAG trova il suo impiego principale nella coagulazione profonda e nella distruzione di tessuti patologici (purché non sia necessario eseguire l'esame istologico). La disponibilità di fibre ottiche, inseribili in endoscopi, in grado di trasportarne la radiazione ne rende ideale l'impiego in endoscopia. L'elevata profondità di penetrazione nei tessuti può causare danni termici alquanto estesi alle zone circostanti, con conseguente rischio di perforazione. Recentemente, è stata sperimentata per impiego clinico anche la radiazione a 1,32 μm emessa dal laser a Nd:YAG. Essendo maggiormente assorbita dall'acqua, presenta un'efficienza di taglio più vicina a quella del laser a $CO_2$, mantenendo la trasportabilità





Digitized by Google

in fibra ottica. La potenza utilizzata per questa radiazione è di 5-40 W.

Il laser ad argon emette una radiazione su più righe (dal vicino U.V. al visibile) di cui quelle principalmente utilizzate sono a 488 e a 514,5 nm. A entrambe queste lunghezze d'onda si riscontra un forte assorbimento da parte della emoglobina. La profondità di penetrazione nel tessuto della radiazione emessa dal laser ad Ar è minore di quella del Nd:YAG, e quindi il suo effetto è prevalentemente di fotocoagulazione superficiale. Anche la radiazione del laser ad Ar è facilmente trasportabile in fibra ottica e viene quindi vantaggiosamente usata in endoscopia. Il laser ad Ar viene inoltre utilizzato in oftalmologia, per produrre fotocoagulazioni nel trattamento delle patologie vascolari della retina e nella profilassi del distacco di retina e per effettuare microincisioni nella terapia del glaucoma primario ad angolo aperto, in dermatologia, per il trattamento di alcuni tipi di angiomi piani, e, a livello sperimentale, in angioplastica, per la distruzione di placche ateromatose.

In oftalmologia si sta studiando la possibilità di utilizzare i laser a diodi con emissione da 800 nm al vicino infrarosso per produrre effetti termici diretti di tipo coagulativo. Il vantaggio di questo tipo di laser rispetto a quelli tradizionalmente impiegati risiede essenzialmente nella loro compattezza, stabilità, affidabilità, maneggevolezza e facilità d'uso.

#### Processi fotomeccanici

In questo tipo di interazione si fa incidere su un tessuto, eventualmente trasparente, la radiazione di un laser a Nd:YAG impulsato (o in regime di *mode-locking* con impulsi di circa 30 picosecondi, o in regime di *Q-switching*, ossia di impulsi giganti, con impulsi di circa 10 nanosecondi). La densità di energia impiegata è di circa 100 J/cm$^2$. L'elevata potenza di picco del laser genera dei fenomeni non lineari. Infatti, focalizzando il fascio sul tessuto bersaglio, si ottengono localmente campi elettrici molto elevati ($10^6$-$10^7$ V/cm), confrontabili con i campi elettrici atomici o intramolecolari. Tali campi inducono, nel tessuto bersaglio, un fenomeno di rottura del dielettrico, ossia la formazione di un volume di materiale ionizzato con una elevata densità di elettroni liberi (microplasma). L'onda d'urto associata alla creazione e all'espansione di questo microplasma genera una rottura meccanica localizzata.

Questo fenomeno di rottura del dielettrico indotta otticamente viene ormai comunemente impiegato nella microchirurgia oculare (v. sotto: *laser in oculistica*). Recentemente lo stesso processo è stato utilizzato a livello sperimentale per la frantumazione di calcoli biliari, con risultati molto promettenti.

#### Processi fotoablativi

La radiazione ultravioletta compresa tra i 200 e i 360 nm viene fortemente assorbita dalla maggior parte dei componenti biologici e ha quindi una profondità di penetrazione nei tessuti molto bassa (al massimo pochi μm). Questa caratteristica è stata recentemente sfruttata, a livello sperimentale, per produrre tagli ben definiti, di tipo fotoablativo, senza necrosi dei tessuti circostanti e di dimensioni molto piccole, utilizzando i *laser a eccimeri*. Nelle applicazioni fotoablative gli impulsi sono di circa 10 ns e la densità di potenza di circa 10 W/cm$^2$. Si possono ottenere tagli dell'ordine del micrometro per impulso laser. Dal punto di vista clinico, oltre alla precisione del taglio, è molto importante la limitazione del danno termico ai tessuti circostanti.

I processi fotoablativi sono stati ampiamente studiati in strati sottili di polimeri per la loro somiglianza con alcune strutture biologiche di interesse come ad es. la cornea (v. sotto: *laser in oculistica*, col. 4356). Il processo fotoablativo consiste in una fotodissociazione, ossia in una rottura diretta dei legami intramolecolari all'interno delle catene polimeriche prodotta dall'assorbimento dei fotoni incidenti. L'utilizzazione di questi processi in campo oculistico, ortopedico, etc. è in fase di sperimentazione.

La sempre maggiore disponibilità di nuovi laser, con caratteristiche di emissione diverse sia dal punto di vista spettrale che dal punto di vista temporale, fa presagire una progressiva estensione dell'impiego clinico dei laser, con applicazioni sempre più mirate e selettive.

V. anche sotto: *effetti biologici della radiazione laser* (col. 4328).

#### Bibliografia

Boulnois J. L., *Laser in Medical Science*, 1986, **1**, 47.
Pratesi R., Sacchi C. A. eds., *Laser in Photomedicine and Photobiology*, 1980 (vol. 22 di *Springer Series in Optical Sciences*), Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York.
Shapshay S. M. ed., *Endoscopic Laser Surgery Handbook*, 1987, Marcel Dekker, New York-Basel.
Trokel S. L. ed., *Nd:YAG Laser Ophthalmic Microsurgery*, 1983, Appleton Century Crofts, Norwalk.
Wolbarsht M. L. ed., *Laser Application in Medicine and Biology*, 1971 (vol. 1), 1974 (vol. 2), 1977 (vol. 3), 1989 (vol. 4), 1991 (vol. 5, in corso di stampa), Plenum Press, New York, London.

ROBERTA RAMPONI

## EFFETTI BIOLOGICI DELLA RADIAZIONE LASER

#### Introduzione

Una radiazione elettromagnetica interagisce con un tessuto biologico secondo quattro distinti fenomeni: trasmissione, riflessione, *scattering* (processo di diffusione all'interno del materiale) ed assorbimento. L'evento fondamentale al fine dell'attivazione di qualsiasi processo fotobiologico è l'*assorbimento della radiazione*. Il fotone assorbito va ad aumentare il contenuto energetico di un elettrone di valenza della molecola, o di una sua parte (cromoforo), che passa così ad uno stato eccitato. Per l'instabilità di tale stato, la molecola perde l'eccesso di energia ritornando allo stato fondamentale attraverso diversi meccanismi, che possono riassumersi in tre processi fondamentali: riemissione di un nuovo fotone (fenomeno di fluorescenza o fosforescenza), riarrangiamento degli orbitali di legame con conseguenti reazioni chimiche e comparsa di nuove specie molecolari stabili, dissipazione sotto forma di energia vibrazionale o calore.

Da un punto di vista temporale l'interazione tra una radiazione luminosa e il materiale biologico può essere considerata come la sequenza di alcuni eventi ben distinti che possono essere raggruppati in due fasi: di *induzione del danno* e di *risposta* allo stesso.

La prima fase, che si esaurisce in un arco di tempo dell'ordine dei secondi, comprende i processi di assorbimento di energia, creazione dello stato eccitato molecolare, dissipazione dell'energia in eccesso, con conseguente ritorno allo stato fondamentale, attraverso decadimenti radiativi (*processo fotofisico*), modificazioni della natura chimica del substrato biologico (*processo fotochimico*) o alterazione di alcuni aspetti strutturali dello stesso (*processo fototermico*) (v. sopra coll. 4324-4326).

Il primo processo, di natura fotofisica, non è direttamente responsabile di effetti biologici veri e propri. Riveste tuttavia una importanza notevole per fini analitici e diagnostici. Sfruttando infatti in modo selettivo l'emissione luminescente di opportuni cromofori, endogeni ed esogeni, possono essere dosate quantità o attività di particolari strutture



Digitized by Google

cellulari, ovvero possono essere evidenziate situazioni strutturali e funzionali diverse, anche significative di stati patologici.

I due altri processi (fotochimico e fototermico) sono i principali responsabili della comparsa di effetti biologici che possono quindi essere considerati come: 1) risposta biologica a reazioni chimiche che comportano un riarrangiamento delle specie responsabili dell'assorbimento o di altre specie, attraverso un processo di trasferimento di energia; 2) risposta biologica ad un aumento termico del sistema.

Per i processi fotomeccanici e fotoablativi, v. sopra *interazione laser-tessuti*, col. 4327.

Il tipo e l'entità della risposta possono variare in dipendenza dalla complessità del sistema considerato: soluzione di biomolecole piuttosto che cellula, tessuto o individuo. La risposta può consistere in una semplice modificazione di una attività come accade nel caso di un enzima in soluzione, in una alterazione di funzioni metaboliche o della cinetica di proliferazione nel caso di cellule in coltura, nell'insorgenza di processi infiammatori e conseguenti azioni di riparo, come avviene negli individui. Analogamente, la complessità del sistema fa variare la scala dei tempi su cui si articola la risposta: dai secondi ai minuti nelle soluzioni di biomolecole, dai minuti ai giorni nelle colture cellulari, dalle ore ai mesi negli individui.

In assenza di opportuni cromofori in grado di aumentare selettivamente il coefficiente di estinzione del materiale biologico, gli effetti da aumento termico sono caratterizzati da scarsa specificità e non presentano una particolare dipendenza dalla lunghezza d'onda della luce impiegata. Al contrario gli effetti derivati dall'attivazione di processi fotochimici sono altamente specifici e fortemente dipendenti dalla lunghezza d'onda impiegata. Per essi viene normalmente definito uno spettro di azione, come funzione del reciproco del numero di fotoni incidenti richiesti per produrre un dato effetto verso le lunghezze d'onda.

Le sorgenti laser, per le loro caratteristiche di monocromaticità, di coerenza spaziale e temporale, di alto grado di collimazione sono particolarmente utili ad attivare processi, sia di natura fotochimica che fototermica, di notevole specificità e di elevato confinamento spaziale. Inoltre, la possibilità di generare elevatissime densità di fotoni mediante impulsi ultracorti focalizzati in volumi molto piccoli, con potenza di picco molto alta, in grado di indurre localmente dei campi elettrici molto elevati con rottura del dielettrico e comparsa di un'onda d'urto di tipo meccanico, prospetta nuove ed interessantissime applicazioni nel campo della microchirurgia.

A partire dall'inizio degli anni '60, cioè non molti anni dopo la loro comparsa, i laser hanno trovato impiego sia nella ricerca biologica che nella pratica medico-clinica. Allo stato attuale, il rapido sviluppo sia della fisica che della tecnologia connessa ai laser ha enormemente ampliato la gamma delle sorgenti disponibili, con caratteristiche cromatiche, spaziali e temporali adatte alle più sofisticate applicazioni.

Qui di seguito vengono considerate alcune delle più significative applicazioni biomediche dei laser, dedicando particolare attenzione agli aspetti biologici che ne sono alla base.

**Microchirurgia cellulare**

Le caratteristiche intrinseche delle sorgenti laser, unitamente alla possibilità di essere accoppiate al microscopio, hanno prodotto uno strumento di enormi potenzialità nello studio a livello di cellule di strutture e funzioni *in vivo*, per la capacità di intervenire selettivamente sui diversi componenti inducendo modificazioni e danneggiamenti mirati, senza coinvolgere in modo rilevante strutture non-*target*. Il ruolo del componente in questione può quindi essere definito analizzando gli effetti dell'intervento sulle cellule figlie, ottenute per clonazione. Lesioni del diametro di 0,25 μm sono ottenibili focalizzando il fascio laser sulla cellula mediante obiettivi ad immersione in olio 100×. Ciò è possibile operando con opportuni filtri grigi per ridurre le zone efficaci sul profilo della distribuzione di intensità del fascio laser, oppure controllando l'estensione dell'area interessata all'azione del laser variando le proprietà di assorbimento delle strutture *target* mediante marcatura con coloranti specifici.

Tra le strutture cellulari maggiormente studiate con tecniche di microirraggiamento vi sono i cromosomi. Un esempio è costituito dall'inattivazione selettiva del gene nucleolare, ottenuto impiegando differenti sistemi di microirraggiamento. L'uso di un laser ad argon di bassa potenza in combinazione con trattamenti con coloranti quali l'arancio di acridina, un intercalante del DNA, comporta delle rotture della catena del DNA sia per processi fotossidativi che per aumento termico locale. Quest'ultimo meccanismo viene attivato anche nel caso di impiego di sorgenti U.V. quale il laser Nd:YAG, quarta armonica, che vengono fortemente assorbite e generano effetti di tipo fotoablativo.

Più complesso sembra il meccanismo che si attiva nel caso di sorgenti laser nel visibile in assenza di coloranti. In questo caso si sono ipotizzati fenomeni di tipo non lineare legati all'elevata densità di fotoni, che danno luogo ad onde d'urto di tipo meccanico. In tutti i casi, si ottiene una distruzione o una inattivazione selettiva del gene che si manifesta nelle generazioni cellulari successive come mancanza di nucleoli, oltre alla scomparsa di una banda luminosa Giemsa nella regione di cromosoma corrispondente all'organizzatore nucleolare.

Oltre alla delezione vera e propria di parti di cromosomi, come riportato sopra, applicazioni di tecniche di microirraggiamento riguardano la manipolazione di geni ottenuta intervenendo solo su porzioni degli stessi. Simili trattamenti condotti su geni ribosomali hanno provocato fenomeni di amplificazione genica delle porzioni residue, come risposta funzionale al danno indotto. Altre applicazioni riguardano la eliminazione di un intero cromosoma da una cellula mitotica per irraggiamento della regione centromerica. La distruzione di questa regione, che è sito di attacco del microtubulo, determina il distacco del cromatidio dal fuso mitotico. Il risultato genetico è la produzione di una delle due cellule figlie mancante di un cromosoma mentre l'altra presenta un cromosoma in sovrannumero sotto forma di micronucleo.

In aggiunta ai cromosomi o altri organelli dell'apparato mitotico, il microirraggiamento laser è stato ampiamente usato nel caso di singoli mitocondri, utilizzando sorgenti nel visibile che sfruttano l'assorbimento naturale per presenza di citocromo e o l'assorbimento per la presenza di cromofori esogeni. I risultati dell'irraggiamento possono essere di inibizione o di stimolazione delle funzioni mitocondriali in dipendenza dalle condizioni sperimentali impiegate; essi vanno da una completa frammentazione e combustione dell'organello a una modificazione delle sue proprietà di membrana.

V. anche sotto: *Laser in ingegneria genetica. Microchirurgia cellulare* (col. 4457).

**Stimolazione di attività cellulari e tessutali**

Accanto all'effetto distruttivo dei laser si è da qualche tempo a questa parte definito un effetto positivo noto come «biostimolazione», connesso all'impiego di sorgenti laser di bassa densità di energia. Irraggiamenti con laser He-Ne o laser I.R. sembrano attivare processi antinfiammatori, indurre effetti analgesici e aumentare le capacità rigenerative delle piaghe. A fronte di tali effetti clinicamente riscontrati, anche se non adeguatamente controllati, sono state avviate ricerche biologiche per definire i possibili meccanismi attraverso i quali possono generarsi tali effetti stimolanti.

A livello di colture cellulari il trattamento con luce mo-





Digitized by Google

nocromatica nel *range* del visibile è in grado di aumentare la sintesi del DNA, secondo uno spettro di azione che presenta tre massimi rispettivamente a circa 400, 600 e oltre i 700 nm. A queste lunghezze d'onda il DNA presenta un assorbimento nullo, indicando quindi che l'incremento di sintesi del DNA deve essere il risultato di una variazione dell'attività cellulare conseguente all'assorbimento della luce da parte di qualche cromoforo. Varie ipotesi sono state avanzate in merito alla natura della molecola in grado di funzionare da trasduttore di energia luminosa in energia metabolica. Due molecole, legate all'attività mitocondriale e caratterizzate da alti coefficienti di estinzione, la citocromossidasi e la flavina-mononucleotide, sembrano essere in grado di svolgere tale ruolo. La luce potrebbe infatti favorire gli equilibri ossidoriduttivi tra le diverse specie molecolari con un aumento di energia libera utile per la sintesi di nuove molecole di ATP. L'aumentata sintesi dell'ATP può giustificare l'aumento delle varie funzioni cellulari, tra cui la stessa sintesi del DNA, la trascrizione dell'RNA, gli scambi attivi con l'esterno, che aumentano la velocità di proliferazione cellulare, come riportato per alcune linee cellulari quali i linfociti, i linfoblasti e le cellule HeLa.

La situazione è, allo stato attuale, ben lontana dall'essere chiarita e continua a suscitare controversie, spesso in merito ai modelli impiegati per le verifiche. Cionondimeno questi effetti biologici sembrano giustificare alcune evidenze riscontrate a livello clinico di una stimolazione fibroblastica e di un potenziamento del microcircolo sanguigno e linfatico, premessa dell'azione stimolante del laser a bassa potenza nel caso di ulcere e piaghe.

Ancor meno chiara è allo stato attuale la situazione per quanto riguarda l'impiego dei laser di bassa potenza nel campo della cosmesi. Numerose sono le applicazioni reclamizzate nel recupero dei processi di invecchiamento della pelle, principalmente del viso. La comunità scientifica, al momento, non ha acquisito alcuna evidenza «scientificamente» valida che supporti tale possibile applicazione né sono riportati studi clinici adeguatamente controllati. Pertanto, in mancanza di ulteriori conferme l'impiego del laser nel campo della cosmesi si deve considerare «non scientificamente provato» (v. anche: *laser in dermatologia*, col. 4357).

**Fotocoagulazione**

La fotocoagulazione (v.*; v. anche sotto: *laser in oculistica*, col. 4349) è un processo di origine termica che ha luogo quando a livello del tessuto biologico viene indotta una temperatura superiore ai 60 °C. Come tale, tuttavia, non può essere considerata una combustione nel vero senso della parola, tant'è che l'unica variazione macroscopica osservabile è uno sbiancamento della superficie irraggiata. La comparsa del fenomeno dello sbiancamento è da attribuire ad una variazione strutturale del tessuto che induce un forte incremento dello *scattering* e della rifrazione della variazione visibile incidente.

Il meccanismo della coagulazione è correlato al processo di denaturazione delle proteine e in particolare alla denaturazione del collagene, una proteina fibrosa largamente diffusa nei mammiferi, dove costituisce un quarto delle proteine totali.

Il collagene svolge una funzione di supporto del tessuto connettivo e delle pareti dei vasi sanguigni. La struttura del collagene consiste dell'associazione di quattro catene polipeptidiche, il tropocollagene, unite a formare una struttura bielica. La stabilità della fibra di collagene dipende dalla stabilità di ogni singola catena di tropocollagene, dipendente dal numero di gruppi imminici (proline e idrossiproline) presenti, e dalla formazione di legami trasversali ad idrogeno e di van der Waals tra le diverse catene.

La temperatura di denaturazione del collagene varia nelle diverse specie ed è in relazione alla temperatura corporea della specie stessa. Nel merluzzo ad es., che ha una temperatura tra 10-14 °C, il collagene ha circa un 15% di proline e idrossiproline, e denatura a 40 °C. Nell'uomo, che ha una temperatura di 37 °C, la presenza di proline e idrossiproline è di circa il 23%, e la temperatura di denaturazione è di circa 65 °C. La contrazione strutturale del collagene, conseguente alla denaturazione, determina un restringimento del vaso e quindi un effetto emostatico. Tale effetto è stato osservato a temperature leggermente differenti per le vene (70 °C) e le arterie (75 °C) in dipendenza dalla diversa pressione all'interno dei vasi. La denaturazione del collagene di per sé tuttavia non è in grado di indurre una completa emostasi, soprattutto su tempi lunghi. Un effetto secondario che concorre a rendere permanente l'emostasi è la trombosi conseguente al danneggiamento termico degli eritrociti, che in tal modo si aggregano a formare il coagulo.

Il laser Nd:YAG è particolarmente adatto per impieghi come fotocoagulatore: è stata ottenuta occlusione di vasi, anche arteriosi, fino a 2 mm di diametro.

**Danneggiamento biologico**

Se si eccettuano i trattamenti laser condotti con sorgenti di bassa intensità, e che danno luogo a quella serie di effetti comunemente raggruppati sotto il fenomeno della biostimolazione, l'interazione del laser con la materia vivente si traduce in un danneggiamento alle strutture biologiche. Tali danneggiamenti sono di regola indotti in modo altamente mirato e costituiscono la base delle applicazioni laser in campo biomedico. L'attivazione di processi fototermici, fotodinamici, fotomeccanici e fotoablativi può tuttavia indurre nei tessuti immediatamente vicini a quelli interessati all'azione diretta del laser danneggiamenti di diversa entità e persistenza a carico delle strutture biologiche. Particolarmente rilevanti sono i danneggiamenti di natura termica conseguenti all'impiego di laser, quali quello a $CO_2$, fortemente assorbiti dai tessuti. In questo caso l'assorbimento diretto del fascio e la conduzione termica determinano alterazioni delle strutture e delle funzioni biologiche in regioni che si estendono per alcune centinaia di µm dal bordo dell'incisione. I danni indotti in questo caso si riassumono nella denaturazione di alcune proteine e nella inattivazione di alcune attività enzimatiche. Tra queste ultime, particolarmente significativa è la G6Pase, la cui determinazione per via istochimica viene utilizzata come *marker* per la delimitazione delle zone interessate al danno di tipo irreversibile. Le condizioni di impiego del laser condizionano fortemente l'estensione delle zone interessate al danneggiamento. Nel caso del laser a $CO_2$, ad es., è stato verificato che il danno può superare il millimetro di profondità, ma esso può essere ridotto di oltre un ordine di grandezza utilizzando impulsi molto corti di potenza elevata. La presenza di tessuto danneggiato al bordo dell'incisione in quantità apprezzabile è causa di rallentamento del processo cicatriziale, e spesso di una cattiva riuscita dello stesso.

La situazione sembra essere notevolmente migliore quando vengono usate sorgenti U.V. e vengono attivati *processi fotoablativi* (ad es. con i laser a eccimeri), sfruttando il forte assorbimento delle molecole biologiche in questa regione. In questo caso, la bassissima penetrazione del fascio nel tessuto biologico è in grado di determinare lesioni controllate di dimensioni molto ridotte, con assenza di necrosi nei tessuti circostanti. Le applicazioni in campo



Digitized by Google

biomedico di questa tecnica sono ancora in fase sperimentale e sono pertanto allo studio possibili effetti mutagenici e carcinogenici della radiazione U.V. sul DNA di cellule limitrofe.

Problemi analoghi legati a possibili modificazioni della natura chimica delle biomolecole possono teoricamente insorgere nel caso di induzione di effetti fotochimici. In questo caso, l'effettiva possibilità di attivare effetti indesiderati è fortemente dipendente dalla specificità di interazione e selettività di localizzazione del fotosensibilizzante impiegato. Effetti di altra natura sono molto improbabili, stante la bassa potenza delle sorgenti impiegate.

Particolarmente interessanti dal punto di vista della preservazione delle proprietà del tessuto biologico sono le tecniche laser basate sull'*effetto elettromeccanico*. L'onda d'urto conseguente alla formazione del microplasma nella zona di focalizzazione degli impulsi ultracorti di elevata potenza genera una rottura meccanica del tessuto molto ben localizzata. Il danno da incremento termico associato al fenomeno è confinato nella regione dove si manifesta la rottura e non interessa le regioni vicine al taglio. La formazione di microplasma inoltre riduce la trasmissione della luce laser nelle regioni posteriori a quella di focalizzazione, limitando quindi la possibilità di effetti indesiderati. Per questi motivi questa tecnica (laser a Nd:YAG impulsato) ha largo uso in applicazioni cliniche particolarmente delicate, quali quelle in oftalmologia.

**Bibliografia**


Berns M. W., Walter R. I., in Catsimpoolas N. ed., *Cell Analysis*, 1982, vol. 1, Plenum Press, New York, p. 33.
Boulnois J. L., *Lasers in Medical Science*, 1986, 1, 47.
Carruth J. A. S., McKenzie A. L. eds., *Medical Lasers: Science and Clinical Practice*, 1986, Adam Hilger, Bristol.
Martellucci S., Chester A. N. eds., *Laser Photobiology and Photomedicine*, 1985, Plenum Press, New York.
Pratesi R., Sacchi C. A. eds., *Lasers in Photomedicine and Photobiology* (vol. 22 di *Springer Series in Optical Sciences*), 1980, Springer-Verlag, Berlin.
Wolbarsht M. L. ed., *Laser Applications in Medicine and Biology*, 1971 (vol. 1), 1974 (vol. 2), 1977 (vol. 3), 1989 (vol. 4), 1990 (vol. 5), Plenum Press, New York, London.


GIOVANNI BOTTIROLI

## ASPETTI MOLECOLARI E CELLULARI DELL'AZIONE FOTODINAMICA

**Introduzione**

La conoscenza delle caratteristiche ottiche dei tessuti biologici ha subito recentemente un notevole impulso (Wilson *et al.*, 1988), consentendo una precisa definizione del grado di penetrazione di specifiche lunghezze d'onda a diverse profondità nel tessuto. In particolare, il potere di penetrazione risulta essere massimo per le radiazioni comprese tra 600 e 1000 nm (la cosiddetta «finestra fototerapeutica»): la scarsa importanza del fenomeno di *light-scattering* in questo intervallo spettrale e la assenza di cromofori endogeni in grado di assorbire la radiazione incidente (con la possibile eccezione della melanina) conferiscono alla radiazione rossa dello spettro visibile una capacità di penetrazione (espressa come la profondità del tessuto alla quale l'intensità della radiazione è uguale ad 1/e rispetto alla intensità della radiazione incidente) dell'ordine di 1-3 cm. Conseguentemente, utilizzando luce di 600-1000 nm, è possibile illuminare in maniera uniforme volumi relativamente ampi di tessuto senza indurre danni significativi ai suoi componenti. È, tuttavia, possibile rendere i tessuti biologici fotosensibili a queste lunghezze d'onda, attraverso l'introduzione di composti fotosensibilizzanti, che siano in grado di assorbire la luce rossa.

Questi processi fotosensibilizzati rivestono un interesse dal punto di vista terapeutico soprattutto nei casi in cui il fotosensibilizzante viene accumulato selettivamente da parte di determinati tessuti; il danno indotto dall'irradiamento è confinato all'interno del tessuto irradiato con luce compresa nell'intervallo tra 600 e 1000 nm, senza effetti apprezzabili a livello dei tessuti adiacenti. Su queste basi, sono in fase di sviluppo alcune tecniche fototerapeutiche, basate sulla azione combinata («azione fotodinamica») di un fotosensibilizzatore, ossigeno ed opportune lunghezze d'onda. Tra queste tecniche, sta incontrando un crescente interesse la PDT (*Photo Dynamic Therapy*: *terapia fotodinamica*), che sta attualmente uscendo dalla fase sperimentale in numerosi paesi, tra cui l'Italia; la PDT appare ormai come una valida alternativa ad altre modalità di trattamento dei tumori.

**Principi base della terapia fotodinamica di tumori**

La tecnica della PDT si basa essenzialmente sui seguenti principi:

1) le porfirine, od altri agenti fotosensibilizzanti di analoga struttura chimica, se iniettate per via sistemica ad un paziente affetto da tumore, si localizzano in concentrazioni significative nell'area neoplastica e vi vengono trattenute per prolungati periodi di tempo;

2) la fotoattivazione delle porfirine per irradiamento del tumore, in cui sono localizzate, provoca un danno fotosensibilizzato di diversi distretti del tessuto neoplastico. La necrosi del tumore si manifesta sotto forma di formazione di escara entro le 24 ore dalla fine del fototrattamento, ed è generalmente completa entro le 72 ore;

3) i tessuti peritumorali non sono, di regola, coinvolti nel fotoprocesso, e tale circostanza consente la ripetizione della PDT su una determinata neoplasia ad intervalli di tempo di circa un mese tra i diversi trattamenti. L'unico effetto collaterale indesiderato della PDT è rappresentato dalla possibile insorgenza di fotosensibilità cutanea generalizzata in pazienti che siano esposti a sorgenti intense di luce nelle settimane immediatamente successive alla somministrazione della porfirina.

**Fisiologia della terapia fotodinamica di tumori**

L'agente fotosensibilizzante, che attualmente è utilizzato con maggiore frequenza a livello clinico, è rappresentato dalla *ematoporfirina* (Hp) o da un suo derivato di modifica chimica (HpD), la cui struttura chimica è mostrata in fig. 25. La presenza di un esteso macrociclo aromatico conferisce a questi composti una notevole idrofobicità, che ne rende le soluzioni acquose termodinamicamente instabili. Una importante conseguenza di questo fatto è la elevata tendenza della Hp, iniettata nel sangue, a legarsi con la matrice apolare di numerose siero-proteine, come albumine, globuline e lipoproteine.

I diversi complessi Hp-proteina sono caratterizzati da differenti proprietà farmacocinetiche, ed in particolare da diversi tempi di dimezzamento nel siero e diverse modalità di rilascio ai tessuti (tab. 1). Pertanto, la biodistribuzione della Hp risulta piuttosto eterogenea, per quanto riguarda sia il rapporto di concentrazione tra tessuto tumorale e tessuti normali, sia la ripartizione del fotosensibilizzatore tra i compartimenti del tessuto tumorale. Ad es., l'albumina (che rappresenta circa il 60% della massa proteica totale del siero) rilascia l'Hp soprattutto a livello del sistema vascolare del tumore, mentre le proteine a bassa densità (LDL), che costituiscono un componente delle lipoproteine, liberano la Hp all'interno delle cellule neoplastiche. A loro volta, le lipoproteine ad alta densità (HDL) tratten-





Digitized by Google

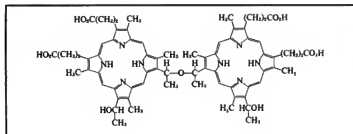



Fig. 25. Struttura chimica di un dimero della ematoporfirina, che rappresenta il costituente principale dell'ematoporfirina derivato (HpD), l'agente fotosensibilizzante attualmente utilizzato a livello clinico nella terapia fotodinamica di tumori.

gono una significativa concentrazione di Hp nel siero per tempi relativamente lunghi, e potrebbero rappresentare una persistente riserva di molecole di Hp nei confronti del tessuto tumorale. Allo stesso tempo, la permanenza di Hp nel siero è stata correlata con la prolungata fotosensibilità alla luce visibile manifestata da pazienti, dopo la PDT.

Una analisi della tab. I suggerisce che, tra i diversi trasportatori di Hp nella circolazione, la massima selettività di rilascio al tumore sia garantita dalle LDL. Queste lipoproteine esprimono un'interazione altamente preferenziale con le cellule neoplastiche, attraverso un meccanismo di endocitosi specifico mediato da recettori per le LDL, normalmente presenti sulla membrana citoplasmatica delle cellule ad alto indice mitotico. È, quindi, importante esaltare l'associazione dei fotosensibilizzanti con le LDL, rispetto alle altre sieroproteine. A tal fine, è importante impiegare fotosensibilizzanti ad elevato grado di idrofobicità, che si localizzino nella porzione lipidica delle LDL; tali fotosensibilizzanti possono essere iniettati sotto forma di complessi con liposomi che, a loro volta, li trasferiscono alla vescicola lipidica delle LDL fondendosi con la superficie fosfolipidica in essa presente.

La idrofobicità del fotosensibilizzante può essere modulata attraverso la estensione dell'area del macrociclo tetrapirrolico tipico delle porfirine: ad es., nelle ftalocianine (fig. 26) e nelle naftalocianine (fig. 27), ogni anello pirrolico della porfirina è condensato, rispettivamente, con un

Fig. 27. Struttura chimica di una naftalocianina ove gli atomi di azoto del macrociclo sono coordinati con un atomo di silicio. La presenza di un anello naftalenico condensato con ciascun anello pirrolico causa una elevata delocalizzazione degli elettroni del sistema aromatico con conseguente spostamento del massimo di assorbimento nel rosso a 780-800 nm, regione spettrale caratterizzata da elevato potere di penetrazione della luce nei tessuti biologici.

Fig. 26. Struttura chimica fondamentale delle ftalocianine, che rappresentano potenziali agenti fotosensibilizzanti di seconda generazione per la terapia fotodinamica di tumori. Le ftalocianine differiscono dalle porfirine per la presenza di un anello benzenico condensato con ciascun anello pirrolico del macrociclo e di un ponte di azoto al posto di un ponte —CH— tra gli anelli pirrolici.

**TAB. I. PROPRIETÀ FARMACOCINETICHE DI DIVERSE POPOLAZIONI DI FOTOSENSIBILIZZANTI PRESENTI NEL SIERO DOPO SOMMINISTRAZIONE PER VIA SISTEMICA**

| Classe di fotosensibilizzatore | Trasportatore | Tempo di vita media nel siero | Distribuzione tra i tessuti | Distribuzione tra i distretti del tumore |
|---|---|---|---|---|
| Non legato a macrobiomolecole | Struttura pseudomicellare | 2 h | Fegato, milza, polmoni, cute, tumore | Macrofagi, cellule endoteliali e neoplastiche |
| Debolmente legato ($K_D = 10^{-5}\ M^{-1}$) | Albumina, apolipoproteine, globuline | 2 h | Fegato, milza, cute, tumore | Connettivo, endotelio, fibroblasti, cellule neoplastiche |
| Fortemente legato ($K_D = 10^{-8}\ M^{-1}$) | Apo-HDL | 7 giorni | Fegato, milza | ? |
| | Apo-LDL | 7-8 h | Tumore | Cellule neoplastiche, endotelio |

$K_D$ = costante di dissociazione del complesso fotosensibilizzante-proteina; HDL = lipoproteine ad alta densità; LDL = lipoproteine a bassa densità.

**TAB. II. BIOMOLECOLE SUSCETTIBILI ALLA AZIONE FOTOSENSIBILIZZATRICE DI AGENTI FOTOTERAPEUTICI DI TUMORI**

| Biomolecola | Esempio specifico | Fotoprodotti |
|---|---|---|
| Lipidi insaturi | Acido oleico<br>Acido arachidonico | Endoperossidi, a loro volta modificati in radicali |
| Steroidi | Colesterolo ed esteri del colesterolo | Idroperossidi con possibilità di ulteriori reazioni a catena |
| Proteine | Aminoacidi aromatici (ad es. triptofano) e solforati (ad es. cisteina) | Prodotti ossidati e fotoaddotti intra- ed inter-molecolari |

anello benzenico o naftalenico. Tali molecole, soprattutto se prive di catene laterali con gruppi polari, sono insolubili in acqua, e possono essere associate in maniera stabile con i liposomi (v.*). In effetti, l'analisi cromatografica di sieri di animali da esperimento, che erano iniettati con ftalo- o naftalocianine in liposomi, mostra un trasporto selettivo dei due tipi di fotosensibilizzante da parte delle lipoproteine, ed un rapporto di concentrazione di fotosensibilizzante tumore/tessuto tumorale di gran lunga superiore a quello tipico della Hp.

Una discussione dettagliata del meccanismo di trasporto di fotosensibilizzanti e del loro rilascio a tumori *in vivo* può essere trovata in Reyftmann *et al.* (1984) ed in Jori (1986).

**Farmacocinetica e farmacodinamica della terapia fotodinamica di tumori**

Il massimo di concentrazione della Hp nei tessuti tumorali è raggiunto dopo circa 3 h dalla somministrazione; alle dosi utilizzate clinicamente, la concentrazione di Hp nel tumore è dell'ordine del μg/g di tessuto. La eliminazione avviene con andamento esponenziale ed è, in generale, completa entro una settimana. Tra i tessuti normali, notevoli quantità di Hp sono accumulate dai componenti del sistema reticolo endoteliale, come fegato e milza, con concentrazioni massime pari a 10-20 microgrammi di Hp per grammo di tessuto; la porfirina, tuttavia, è rilasciata dai tessuti normali secondo una cinetica nettamente più veloce rispetto ai tessuti tumorali, che sono caratterizzati da un drenaggio linfatico particolarmente inefficiente. Non vi sono, invece, accumuli apprezzabili di Hp da parte di muscolo, tessuto adiposo e cervello; questo fatto suggerisce l'assenza di effetti neurotossici da parte delle porfirine e dei loro analoghi. Infine, quantità trascurabili di Hp sono accumulate dai reni, in quanto questi composti sono normalmente eliminati dall'organismo per via epatobiliare, senza che vi siano alterazioni della loro struttura chimica dovute al metabolismo.

Un comportamento farmacocinetico sostanzialmente analogo a quello descritto per la Hp è stato osservato nel caso di *ftalocianine* e *naftalocianine*; tuttavia, tali composti, data la maggiore idrofobicità, sono rilasciati dai tessuti, compreso quello tumorale, con una cinetica particolarmente lenta. La concentrazione nel tessuto decresce al 50 e 10% di quella iniziale dopo circa 6 e 14 giorni dalla somministrazione.

In generale, la Hp e le ftalo- o naftalocianine si distribuiscono nelle membrane cellulari, come quella citoplasmatica, mitocondriale e lisosomale in conseguenza della loro lipofilicità. Tuttavia, la distribuzione endocellulare di tali composti è dinamica: a tempi brevi (3-6 h) prevale la popolazione della membrana citoplasmatica, mentre a tempi relativamente lunghi (12-18 h) il fotosensibilizzante è prevalentemente associato con organelli del citoplasma. È probabile che quest'ultima situazione rifletta più fedelmente quella che si verifica *in vivo* al momento della PDT, che è effettuata a distanza di almeno 24 h dalla somministrazione del fotosensibilizzante.

Le proprietà farmacocinetiche di fotosensibilizzanti usati nella PDT sono discusse da Dougherty (1984).

**Fotobiologia della terapia fotodinamica di tumori**

Per irradiamento con un quanto di luce rossa, il fotosensibilizzante presente nel tumore viene promosso ad uno stato elettronico eccitato (Sens-1), da cui può trasformarsi nello stato eccitato di tripletto (Sens-3) che, per il suo lungo tempo di vita, rappresenta l'intermedio fotoreattivo in una ampia gamma di processi fotosensibilizzati (Spikes, 1986). La specie Sens-3 può agire secondo due meccanismi. Nel processo di tipo I, Sens-3 scambia un elettrone con una molecola di substrato (Sub), dando origine a specie radicaliche:

$$\text{Sens-3} + \text{Sub} \rightarrow \text{Sens}^{+} + \text{Sub}^{-}$$

I radicali, così generati, possono reagire ulteriormente secondo reazioni a catena, amplificando il numero di specie coinvolte nel fotoprocesso.

Nel meccanismo di tipo II, la specie Sens-3 trasferisce l'energia di attivazione all'ossigeno, che è convertito in un derivato altamente reattivo, detto «ossigeno di singoletto»:

$$\text{Sens-3} + O_2 \rightarrow \text{Sens} + {}^1O_2$$

La specie ${}^1O_2$ è caratterizzata da elevata reattività, soprattutto nei confronti di siti ricchi di elettroni.

Le evidenze attualmente disponibili (Kessel, 1984) indicano che il meccanismo via ossigeno di singoletto svolge un ruolo certamente importante nel processo di fotosensibilizzazione dei tumori durante la PDT, anche se non può essere escluso un contributo parziale del meccanismo di tipo I.

In ogni caso, come indicato nella tab. II, le biomolecole maggiormente suscettibili all'azione fotosensibilizzatrice di Hp, come pure di ftalo- e naftalocianine, sono costituite da lipidi insaturi, steroidi, aminoacidi aromatici e solforati con formazione di prodotti ossidati o di fotoaddotti. La localizzazione dei fotosensibilizzanti in corrispondenza di membrane citoplasmatiche e mitocondriali causa una necrosi della cellula a cui sono legati per alterazione della permeabilità di membrana ed inattivazione della funzionalità mitocondriale. Non si osservano, invece, danni apprezzabili a livello del nucleo cellulare; conseguentemente, la PDT non presenta rischi significativi di azione mutagena sui tessuti irradiati.

**Fotosensibilizzanti di seconda generazione**

Sebbene l'Hp e l'HpD siano utilizzati con un certo successo nella PDT, è ormai evidente che l'introduzione di nuovi





Digitized by Google

fotosensibilizzanti, come le ftalocianine e naftalocianine, potrà far compiere un notevole salto di qualità alla tecnica fototerapeutica; i principali vantaggi di questi fotosensibilizzanti di seconda generazione possono essere riassunti nei seguenti punti:

a) elevata purezza chimica (questo fattore limita l'applicazione di Hp e HpD);

b) elevato coefficiente di estinzione nella regione spettrale compresa tra 680 e 820 nm, ove la penetrazione della luce nei tessuti (soprattutto nei tessuti pigmentati) è nettamente superiore a quella della luce di 630 nm, utilizzata nella PDT con porfirine;

c) prolungata permanenza di concentrazioni significative nei tumori, che consente (almeno in linea di principio) trattamenti multipli della lesione neoplastica dopo una singola iniezione di fotosensibilizzante;

d) possibilità di ottenere risposte importanti del tumore alla PDT dopo somministrazione di dosi di fotosensibilizzante dell'ordine di 0,1-0,5 microgrammi per grammo di peso corporeo, cioè inferiori per un ordine di grandezza a quelle utilizzate con porfirine.

**Sorgenti laser nella terapia fotodinamica di tumori**

La PDT può essere eseguita utilizzando sorgenti luminose non-coerenti, la cui emissione è filtrata con filtri ottici per isolare l'intervallo di lunghezze d'onda desiderato. Tuttavia, le sorgenti laser sono senz'altro utilizzate nella grande maggioranza dei centri clinici, e diventano indispensabili negli impieghi endoscopici della PDT (tumori di bronchi, esofago, polmoni) ove il fascio luminoso è pilotato sino al sito da irradiare per mezzo di una fibra ottica accoppiata alla sorgente laser.

Nella pratica clinica attuale, due tipi di sorgenti laser sono impiegati: il laser a vapori d'oro (emissione a 628 nm) ed il laser ad argon-colorante, con emissione accordabile in funzione delle caratteristiche del colorante stesso; nel caso della Hp, la lunghezza d'onda ottimale è quella di 630 nm, facilmente ottenibile con coloranti della famiglia delle cumarine o delle rodamine.

La prossima introduzione di fotosensibilizzanti con picchi di assorbimento nella regione di lunghezze d'onda superiori a 680 nm fa ritenere, tuttavia, probabile la utilizzazione di nuove sorgenti laser, quali laser a diodo o laser allo stato solido (laser ad alessandrite e laser a titanio:zaffiro). A questo scopo va tenuto presente che, per la PDT, non sono richieste alte densità di potenza per l'irradiamento, al fine di evitare l'insorgenza di fenomeni di ipertermia, che potrebbero sovrapporsi all'effetto fotodinamico e ridurre la selettività della PDT. Le ricerche di questo settore, per quanto non ancora definitive, suggeriscono una soglia di 0,2-0,3 W/cm$^2$ al di sopra della quale il rischio di una importante ipertermia diviene non più trascurabile (Parrish, 1982; Spikes e Jori, 1987).

V. anche: *fotochemioterapia endoscopica di tumori* (col. 4363); *lasertermia* (col. 4375).

**Bibliografia**

Dougherty T. J., *CRC Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 1984, **2**, 83.
Jori G., *Radiat. Phys. Chem.*, 1986, **11**, 235.
Kessel D., *Photochem. Photobiol.*, 1984, **39**, 851.
Parrish J. A., in Regan J. D., Parrish J. A. eds., *The Science of Photomedicine*, 1982, Plenum Press, New York, p. 511.
Reyftmann J. P., Morlière P. *et al.*, *Photochem. Photobiol.*, 1984, **40**, 721.
Spikes J. D., *Photochem. Photobiol.*, 1986, **43**, 691.
Spikes J. D., Jori G., *Lasers Med. Sci.*, 1987, **2**, 3.
Wilson B. C., Patterson M. S. *et al.*, in Douglas R. H. *et al.* eds., *Light in Biology and Medicine*, 1988, Plenum Press, New York, p. 45.

GIULIO JORI

## NORME DI SICUREZZA PER L'IMPIEGO DI APPARATI LASER

**Cenni sugli effetti delle radiazioni laser sui tessuti**

Gli effetti della radiazione laser sui tessuti dipendono principalmente dalla lunghezza d'onda, dalla potenza o energia assorbita per unità di superficie e dalla durata dell'esposizione (v. sopra, col. 4323 e col. 4328). Gli organi maggiormente esposti a rischio sono gli occhi e la pelle.

Il rischio di danno oculare è particolarmente elevato nel caso di radiazioni visibili (con lunghezze d'onda comprese fra 400 e 700 nm) o nel vicino infrarosso, perché l'occhio è in grado di focalizzarle sulla retina (fig. 28). Le densità di potenza o di energia sulla retina sono tipicamente centomila volte più elevate di quelle in arrivo sull'occhio a livello della cornea (fig. 29). La penetrazione della radiazione nei tessuti dipende dalla lunghezza d'onda: nella pelle è massima per radiazioni attorno al micron (fig. 30).

Il meccanismo di danneggiamento dei tessuti varia con la lunghezza d'onda: le radiazioni *ultraviolette* hanno una azione prevalente di tipo fotochimico che porta alla distruzione delle cellule epiteliali causando, nell'occhio, congiuntiviti o, nel caso di penetrazione più profonda, cataratte e, nella pelle, dermatiti con possibili effetti mutageni ad alte dosi.

L'entità del danno ai tessuti è determinata, in questo caso, dalla durata della esposizione e dalla potenza assorbita e cioè dalla dose complessiva (energia assorbita per unità di superficie).

Le radiazioni nel *visibile* e nell'*infrarosso* hanno, per esposizioni fra 0,1 ms ed 1 s, un'azione prevalentemente termica; il danno deriva dalla sovratemperatura indotta nel tessuto e dal tempo di persistenza della condizione che porta alla denaturazione delle proteine. L'entità del danno è quindi determinata dalla potenza della radiazione in arrivo, dalla sua durata e dalla capacità dei tessuti di disperdere il calore per conduzione (diffusività termica) e, su tempi più lunghi, per convezione da parte dei fluidi che irrorano i tessuti stessi. Ad es. i valori di ***esposizione massima permissibile*** (EMP) previsti dalle norme per esposizione oculare diretta per i laser a Nd:YAG con emissione a 1,06 μm sono di 5 μJ/cm$^2$ per impulsi con durata inferiore a 2 μsec e salgono fino a 10 mJ/cm$^2$ per impulsi di durata un secondo perché nel secondo caso l'energia assorbita si diffonde nei tessuti adiacenti e l'innalzamento locale di temperatura è dello stesso ordine anche se l'energia assorbita è molto maggiore. Questo andamento è stato verificato con una serie di misure della soglia di danneggiamento del tipo indicato in fig. 31 (Sliney, 1984). Non si hanno in genere

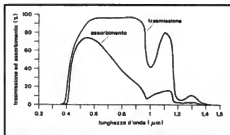



Fig. 28. Trasmissione dell'occhio umano e assorbimento della radiazione luminosa nella retina e nella coroide.





Digitized by Google

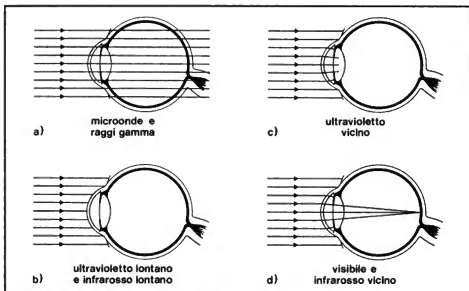



Fig. 29. Modalità di assorbimento della radiazione elettromagnetica nell'occhio.

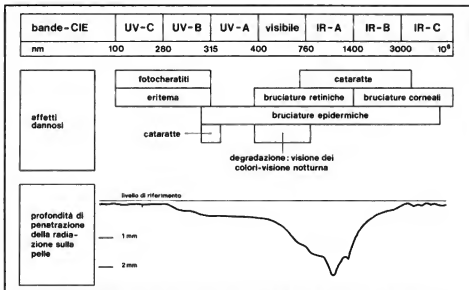



Fig. 30. Sintesi dei principali effetti della radiazione sui tessuti nelle diverse regioni spettrali, definite secondo gli standard CIE (Commission Internationale d'Eclarage).

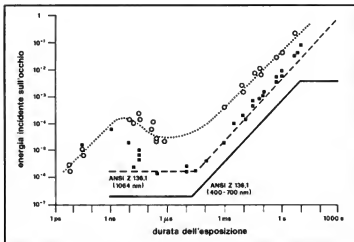



Fig. 31. Misure dell'energia di soglia per la lesione della retina in funzione della durata dell'impulso per due diverse lunghezze d'onda (○ 1064 nm; ■ visibile). La *linea tratteggiata* indica i limiti di esposizione ammissibile secondo le norme ANSI Z-136.1. Per tempi maggiori di 20 μs si nota l'effetto della diffusione del calore nei tessuti.

effetti cumulativi a lungo termine nel senso che se vi è un danno irreversibile esso si manifesta in breve tempo dopo l'esposizione.

Nell'*infrarosso medio* e *lontano* si hanno ancora effetti di tipo termico limitati alla superficie esterna dell'occhio senza che venga interessata la retina (fig. 30). Tuttavia in alcuni casi anche con la radiazione visibile e infrarossa vi possono essere effetti integrati nel tempo che dipendono dalla dose assorbita dal tessuto (un esempio è dato dalla cataratta da infrarossi).

**Criteri di classificazione dei laser ai fini dei rischi di esposizione**

Sulla base di accurate sperimentazioni sulle soglie di danneggiamento dei diversi tipi di tessuti effettuate con radiazioni di diversa lunghezza d'onda ed esposizioni di diversa durata, sono stati definiti i livelli di *esposizione massima permissibile* (EMP) per l'occhio e per la pelle.

Per l'occhio vengono fissati i limiti sia per l'osservazione di luce laser diffusa da una sorgente estesa, sia per l'os-

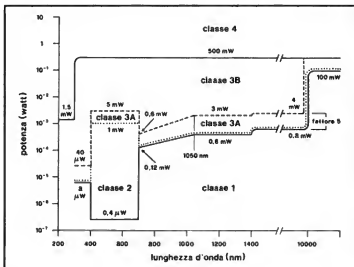



Fig. 32. Classificazione dei *laser ad emissione continua*, in funzione della potenza e della lunghezza d'onda di emissione. Limite di emissione accessibile per le classi 1, 2, 3A, 3B, 4. (*Da IEC 825 [CEI 76-2]*).




Digitized by Google

servazione di un fascio collimato, in grado di essere focalizzato sulla retina.

Da questi livelli di esposizione permissibile derivano in particolare i criteri di classificazione dei laser nelle diverse classi di pericolosità e tutte le indicazioni relative alle normative di sicurezza che i costruttori di apparati laser devono adottare.

Nella fig. 32 vengono presentati in modo sintetico i limiti di potenza per le varie classi in funzione della lunghezza d'onda, nel caso *laser con emissione continua*. Tali limiti riguardano i livelli di radiazione a cui l'operatore può essere esposto. Per i laser con emissione ad impulsi i limiti riguardano l'energia per impulso in relazione alla lunghezza d'onda e alla durata e sono riportati nelle norme. Le classi così definite hanno le seguenti caratteristiche di pericolosità.

*Apparati laser di classe 1*

Non sono pericolosi anche per osservazione diretta e prolungata del fascio.

*Apparati laser di classe 2*

L'osservazione diretta del fascio non è pericolosa per tempi inferiori a 0,25 s, come accade ad es. se interviene, come meccanismo di protezione, il riflesso palpebrale o la reazione di avversione dell'occhio.

*Apparati laser di classe 3A*

È pericolosa l'osservazione diretta del fascio mediante sistemi ottici quali binocoli o oculari. L'osservazione ad occhio nudo non è pericolosa se l'occhio mette in atto entro 0,25 s meccanismi di protezione (chiusura delle palpebre o aversione).

*Apparati laser di classe 3B*

È pericolosa l'osservazione diretta del fascio ad occhio nudo. Non è pericolosa l'osservazione della luce diffusa da uno schermo (per tempi minori di 10 s).

*Apparati laser di classe 4*

È pericolosa anche l'osservazione della radiazione diffusa da uno schermo.

È da notare che la classificazione riguarda gli apparati laser e non i laser che essi contengono in quanto tale classificazione si basa sui livelli di radiazione accessibili da parte di un operatore. Se ad es. viene impedito completamente l'accesso umano alla radiazione laser mediante opportuni involucri protettivi, si può realizzare un apparato di classe 1 contenente un laser che, preso isolatamente, sarebbe classificato di classe 4

**Normativa per I costruttori**

Dal 1984 è stata definita dalla International Electrotechnic Commission (IEC) una normativa per la sicurezza nell'impiego delle radiazioni laser (Pubbl. IEC 825, 1984). Tale pubblicazione si articola in una parte relativa alle prescrizioni di fabbricazione per i costruttori ed in una parte relativa alla guida per gli utilizzatori. Le prescrizioni per i costruttori sono contenute nel documento europeo di armonizzazione HD 482 S1 convertito successivamente nella norma europea Pr. En 60825. Questo documento è stato recepito dal CEI in versione italiana con l'emanazione delle norme CEI 76-2.

Tale norma (Pubbl. CEI 76-2, 1988) contiene, in particolare, le indicazioni relative ai vari dispositivi di protezione, che devono essere presenti in un apparato laser in base alla classe di appartenenza.

**Normativa per gli utilizzatori**

In base ai lavori degli appositi gruppi di studio del CT 76: «Apparati laser», il CEI ha emesso la: «Guida per l'utilizzazione di apparati laser» (Pubbl. CEI, 1989) contenente quattro guide per l'utilizzatore, che riguardano diverse classi di applicazioni; la guida D in particolare riguarda la utilizzazione clinica dei laser medicali.

La guida per l'utilizzatore fornisce informazioni sulle procedure di controllo dei rischi in relazione alla pericolosità e quindi alla classe del laser usato, all'ambiente nel quale il laser è utilizzato, al livello di formazione del personale che ne cura il funzionamento o che può essere esposto alla radiazione. Vengono qui di seguito sintetizzati i punti principali trattati nelle norme.

1. *Modalità di installazione delle apparecchiature laser.* – Vengono date in particolare informazioni sulle misure di sicurezza da predisporre in fase di installazione riguardanti l'uso dell'interruttore di blocco a distanza, del comando a chiave, del sistema di arresto di fascio o dell'attenuatore, i segnali di avvertimento di emissione del laser, la definizione del tragitto dei fasci e le modalità d'impiego per evitare riflessioni speculari.

2. *Definizione delle zone di rischio.* – Per le classi 3B e 4 vengono date indicazioni per la definizione della distanza nominale di rischio oculare (DNRO) e cioè di quella distanza dal laser oltre la quale l'illuminamento o l'esposizione energetica scendono al disotto delle EMP appropriate. Data la complessità di tali valutazioni, si suggerisce di ricorrere, in caso di incertezza, al consiglio degli Addetti alla Sicurezza Laser (ASL) e cioè di tecnici laser, che abbiano anche competenze specifiche in problemi di sicurezza. Nella guida ne è prevista infatti la presenza presso gli enti ospedalieri, tipicamente presso il reparto di fisica sanitaria.

3. *Protezioni generali.* – Vengono anche indicate le modalità per ridurre al minimo la necessità di apposite protezioni individuali mediante opportune installazioni di sistemi di confinamento del fascio all'esterno o all'interno degli apparati di trasmissione e di focalizzazione del fascio. Il percorso del fascio deve essere se possibile delimitato e il fascio stesso quando non in uso deve essere inviato su appositi assorbitori.

4. *Protezioni individuali.* – Quando non è possibile realizzare una protezione generale completa è necessario ricorrere a protezioni individuali. Vengono date in particolare istruzioni sul modo di ottenere un'efficace protezione degli occhi mediante l'identificazione del protettore oculare più adatto. La densità ottica necessaria è data da: $D_{\lambda} = \log_{10} H_0/EMP$ dove $H_0$ rappresenta il livello di esposizione previsto per l'occhio non protetto ed EMP rappresenta il livello di esposizione massima permessa per la lunghezza d'onda considerata. Altri dati importanti sono la resistenza al danneggiamento del materiale usato, la stabilità nel tempo delle caratteristiche di assorbimento, la protezione anche per visione periferica ed infine la leggerezza ed il comfort nell'uso.

5. *Formazione del personale.* – Una delle forme più efficaci di prevenzione dei rischi è la formazione del personale incaricato dell'azionamento dei laser, ad es. mediante appositi corsi nei quali vengano esposti chiaramente le procedure di funzionamento del sistema, le procedure di controllo del rischio, il significato dei segnali di avvertimento, i criteri di impiego delle protezioni inividuali, gli effetti biologici del laser sull'occhio e sulla pelle.

6. *Sorveglianza medica.* – Nella guida vengono anche fornite alcune raccomandazioni relative alla sorveglianza medica del personale che impiega i laser, in particolare per quel che riguarda gli esami oculistici e dermatologici di





Digitized by Google

routine e quelli da eseguire io caso di esposizione apparentemente nociva o presunta tale.

7. *Rischi collaterali.* – Per quel che riguarda i rischi collaterali, particolare attenzione deve essere posta nel caso di interventi che richiedano l'uso di anestetici o di altri prodotti, quali resine metacrilate o plastiche infiammabili, oppure di ossigeno che favorisce la combustione. Negli interventi chirurgici coo eodoscopio, nel tratto aerodigestivo, è necessario proteggere il tubo endotracheale o gli altri tubi con materiale adeguato, come ad es. fogli d'alluminio. Sooo anche consigliati tubi di gomma rossa, mentre dovrebbe essere evitato l'uso di tubi di plastica o di silicone.

Anche i camici ed i vestiti protettivi dovrebbero essere fabbricati coo materiale adeguato.

8. *Indicazioni specifiche per specialità.* – Nelle norme ANSI Z.136.2 (in vigore negli U.S.A.) è contenuta inoltre tutta una serie di iodicazioni e suggerimenti per il corretto impiego dei laser negli interventi propri di ciascuna specialità medica (Pubbl. ANSI, 1988). Seguendo poche precise indicaziooi specifiehe per ciascun tipo di applicazione è possibile minimizzare il rischio per il personale medico e paramedico e ridurre la probabilità di complicanze per il pazieote. Quest'ultimo aspetto è stato oggetto di accurati studi e sono adesso disponibili appositi testi specialistici ove vengono indicati per le varie specialità i eriteri di selezione dei pazienti e le procedure di intervento consigliate.

Indicazioni e modalità di intervento con laser nelle varie specialità mediche sooo riportate nei capitoli di questa voce dedicati alle *applicazioni terapeutiche* (coll. 4347-4432).

**Bibliografia**

Pubbl. ANSI Z 136.3-1988, *For the Safe Use of Lasers in Health Care Facilities*, 1988, ed. ANSI, 1430 Broadway, New York 10018.

Pubbl. CEI 76-2, *Apparecchi laser: Sicurezza dalle radiazioni, classificazione dei materiali e prescrizioni*, 1988, ed. CEI, viale Monza 259, Milano.

Pubbl. CEI, *Guida per l'utilizzazione di apparati laser*, fasc. 1284 G, 1989, ed. CEI, viale Monza 259, Milano.

Pubbl. IEC 825, *Radiation Safety of Laser Products, Equipment Classification, Requirements and User's Guide*, 1984, ed. Bureau Central de la CEI, Genève 3, rue de Varembe'.

Sliney, D. H., Wolbarsht M., *Safety with Lasers and Other Optical Sources*, 1980, Plenum Press, New York and London.

Sliney D. H., *Interaction Mechanism of Laser Radiation with Ocular Tissues*, in Bennett H., Guenther A., Milan D., Newman B. eds., *Laser Induced Damage in Optical Materials*, 1984, NBS Pubbl. 699, US Dept of Commerce, Washington.

ALBERTO SONA

## APPLICAZIONI TERAPEUTICHE

SOMMARIO





Digitized by Google

## LASER IN OCULISTICA

**Introduzione**

La nozione che le radiazioni luminose focalizzate possono produrre effetti a livello retinico è antichissima. Già Platone infatti, nel *Fedone*, raccomandava di non osservare mai il sole in modo diretto durante un'eclissi solare per i rischi sulla vista che poteva comportare. Descrizioni di «fotocoagulazioni attiniche» si trovano poi nel Medio Evo (Theophilus Bonetus, 1620-1689), ma bisogna attendere l'avvento dell'oftalmoscopia (Helmholtz, 1851) per trovare riportati in letteratura numerosi casi di danni retinici prodotti da raggi solari (Birch-Hirschfeld, 1912; Blessing, 1912; Cords, 1912).

Fu però di un italiano, Luigi Maggiore, l'intuizione di utilizzare a scopo terapeutico le radiazioni luminose. Le prime sperimentazioni nell'uomo sugli effetti delle radiazioni solari e da luce elettrica furono condotte infatti nel 1927 da Maggiore e pubblicate nel 1933 con una particolareggiata descrizione istologica. Maggiore ebbe modo di studiare tre occhi di tre pazienti affetti da tumori maligni infiltranti l'orbita e sottoposti, pochi giorni prima dell'enucleazione, ad una esposizione prolungata alla luce solare in un occhio ed alla luce di una lampada elettrica Nitra negli altri due.

L'esperienza di Luigi Maggiore diede il via ad una serie di ricerche (Meyer-Schwickerath; Raverdino) che, dapprima in modo limitato e poi in modo sempre più diffuso, hanno portato alla messa a punto di strumenti sempre più perfezionati. La scoperta nel 1960 delle radiazioni laser ha portato alla realizzazione dei moderni fotocoagulatori impiegati attualmente. La *fotocoagulazione* (v.*; v. sotto) però rappresenta oggi solo uno degli effetti terapeutici ottenibili impiegando la luce laser. Accanto ad essa vanno ricordati gli effetti di *fotoresezione e fotoablazione* che, soprattutto negli ultimi tempi, hanno trovato applicazione diffusa in campo oftalmologico.

**Fotocoagulazione laser**

Come accennato precedentemente, la fotocoagulazione rappresenta cronologicamente il primo degli effetti terapeutici della luce laser impiegati in ambito clinico.

Zweng già nel 1963 mise a punto il primo laser a rubino con il quale furono iniziati i trattamenti fotocoagulativi delle patologie corioretiniche. Due anni più tardi, Francis L'Esperance realizzò il primo fotocoagulatore ad argon con cui i trattamenti vennero estesi ad un vasto campo di patologie corioretiniche. Quest'ultimo rappresenta tuttora il laser più utilizzato in oftalmologia.

Il fotocoagulatore ad argon può emettere radiazioni di lunghezze d'onda corrispondenti al blu-verde o più strettamente monocromatiche sul verde. L'assorbimento delle radiazioni laser da parte dei tessuti oculari (pigmento retinico, coroide e vasi retinici) induce un repentino e ben localizzato innalzamento della temperatura e quindi una fotocoagulazione. Questa coagulazione è massima a livello degli strati retinici più esterni e delle strutture adiacenti e si diffonde anche negli strati più interni quando l'intensità è più forte. Pertanto l'effetto della fotocoagulazione dipende dalle scelte dell'operatore (ampiezza degli impatti, tempi di esposizione, intensità).

Accanto agli strumenti ad argon sono oggi routinariamente impiegati il laser a krypton e i laser a colorante organico. Il primo ha indicazione elettiva nei casi di fotocoagulazioni condotte in prossimità della regione maculare o in presenza di sangue nella cavità vitreale; il secondo invece ha la prerogativa di poter variare entro un ampio ambito (da 575 a 640 nm) la lunghezza d'onda della radiazione emessa. L'operatore ha così la possibilità di selezionare, a seconda della patologia da trattare, la radiazione che garantisca massimo effetto terapeutico con minimi effetti collaterali.

Infine, più recentemente (1987), è stato proposto un nuovo tipo di laser per fotocoagulazione retinica: il laser a diodo semiconduttore (CLED; v. sopra col. 4317), che emette attualmente radiazioni nella regione spettrale del vicino infrarosso (780-840 nm). I primi studi clinici condotti con questa strumentazione montata su lampada a fessura hanno dimostrato un'efficacia terapeutica analoga a quella dei fotocoagulatori tradizionali (v. anche: FOTOCOAGULAZIONE*).

Questi risultati preliminari, unitamente alle ridotte dimensioni e maggiore compattezza, all'affidabilità ed al basso costo del laser a diodo fanno prevedere come imminente l'inizio di una nuova era nella microchirurgia laser in oftalmologia.

La fotocoagulazione laser viene oggi eseguita con il paziente in posizione seduta e con la testa appoggiata su di un apposito sostegno. L'applicazione viene effettuata senza il ricorso ad alcun tipo di anestesia ad eccezione di poche gocce di collirio anestetico instillate nel sacco congiuntivale. L'apertura delle palpebre durante il trattamento è assicurata da una apposita lente a contatto che svolge anche funzioni ottiche di messa a fuoco del fascio laser. L'operatore, con un biomicroscopio accoppiato ad un sistema produttore della luce coerente, focalizza il fondo dell'occhio (la retina o le altre strutture da sottoporre a trattamento) ed invia impulsi laser, comandati generalmente da un pedale. La fotocoagulazione laser agisce producendo una cicatrice, quale esito delle lesioni provocate dalla coagulazione. La cicatrice salda i tessuti che minacciano di staccarsi, distrugge i tessuti patologici, occlude i vasi retinici anomali.

Le maggiori indicazioni della fotocoagulazione riguardano la profilassi del distacco di retina, la retinopatia diabetica ed altre malattie vascolari retiniche, processi degenerativi della macula, il glaucoma cronico semplice.

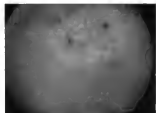
*Fotocoagulazione laser nella profilassi del distacco di retina*

Esistono delle lesioni retiniche, a prevalente localizzazione periferica, capaci di provocare una soluzione di continuo della retina stessa e quindi un sollevamento del neuroepitelio dal sottostante epitelio pigmentato retinico (*distacco di retina*). La profilassi del distacco di retina mediante la fotocoagulazione laser consiste nel determinare una cicatrice corioretinica aderente, sufficientemente resistente, in grado di determinare uno sbarramento tra la porzione di retina degenerata, da cui può originare il distacco retinico, e la retina sana (fig. 33). Tale sbarramento può essere eseguito in modo circoscritto intorno alle lesioni o su tutta la superficie retinica (quando l'estensione delle lesioni è notevole): quest'ultimo tipo di trattamento viene definito «cerchiaggio fotocoagulativo».

Fig. 33. In presenza di lesioni predisponenti al distacco di retina, il trattamento laser viene condotto in sede circostante, allo scopo di creare una cicatrice aderente in grado di ridurre il potenziale evolutivo della lesione.





Digitized by Google

Quando però il distacco di retina si è già instaurato non è più possibile intervenire in modo utile mediante il laser ed è indispensabile il ricorso al trattamento chirurgico.

*Fotocoagulazione laser nella retinopatia diabetica*

La retinopatia diabetica è una grave e frequente complicazione del diabete mellito e costituisce oggi una delle maggiori cause di cecità nei paesi occidentali. L'evoluzione spontanea della retinopatia diabetica, quando lasciata alla sua naturale evoluzione, è nella maggioranza dei casi verso un graduale deterioramento della corioretina e quindi una diminuzione dell'acuità visiva fino, nei casi più gravi, alla cecità assoluta.

Lo studio delle lesioni corioretiniche prodotte dal diabete viene eseguito mediante l'angiografia retinica a fluorescenza (v.*). È questa una tecnica semeiologica consistente nell'eseguire, mediante un'apposita apparecchiatura fotografica, una serie di foto del fondo dell'occhio dopo aver iniettato in circolo un colorante fluoresceote. Mediante la fluorangiografia è possibile distinguere essenzialmente due tipi di lesioni:

1) grave alterazione dell'integrità della parete dei piccoli vasi retinici, in genere circoscritta al polo posteriore, che determina la comparsa dell'edema retinico e degli essudati duri (*retinopatia diabetica essudativa*);

2) occlusione di ampie aree di capillari retinici (retinopatia ischemica) che conduce, attraverso un mediatore non ancora identificato, alla comparsa di vasi anomali ed assai fragili (*retinopatia proliferante*). Questi vasi neoformati tendono, causa la loro anomala struttura istologica, a sanguinare con estrema facilità producendo delle emorragie endovitreali. I vasi neoformati inoltre, accompagnandosi ad una impalcatura fibrosa, operano una trazione sul piano retinico determinando, in alcuni casi, un distacco di retina secondario.

La fotocoagulazione laser costituisce oggi l'unico mezzo per prevenire le più gravi conseguenze della retinopatia diabetica. Ovviamente per approdare a risultati utili è necessario che l'indicazione sia posta correttamente ed il trattamento eseguito in modo appropriato. A questo scopo sarà indispensabile valutare in modo completo ciascun caso clinico, senza dimenticare parametri importanti agli effetti della retinopatia (quali controllo metabolico, eventuale ipertensione e/o dislipidemie).

Dopo avere eseguito una simile valutazione, sulla base delle informazioni ottenute nel corso della visita oculistica (acuità visiva, condizioni del segmento anteriore, condizioni del fondo oculare) e, soprattutto, sulla base della fluorangiografia, sarà possibile eseguire il trattamento laser. Questo dovrà mirare alla distruzione, in modo circoscritto, delle alterazioni causa dell'edema retinico (fig. 34), e a coagulare in modo adeguatamente intenso le aree retiniche ischemiche che, con la loro presenza, stimolano la comparsa dei neovasi anomali. La distruzione o amputazione di queste aree retiniche ischemiche può essere estesa alla periferia o media periferia retinica nel suo complesso quando il danno ischemico interessa gran parte della superficie retinica (fig. 35). I laser utilizzati a questo scopo sono sia l'argon verde sia il krypton rosso, sia il laser a colorante organico alle varie lunghezze d'onda. Da evitare, invece, la componente blu dell'argon-laser sia per gli effetti dannosi sugli strati retinici più interni, sia per lo *scattering* elevato, sia per gli effetti dannosi sull'apparato visivo dell'operatore che, molto recentemente, sono stati evidenziati.

Il trattamento delle alterazioni microvascolari con sede prossima al polo posteriore deve essere invece condotto preferibilmente con il laser a colorante organico giallo (575 nm) e con il laser argon verde, che presentano un massimo effetto di coagulazione vascolare con valori di energia più bassi, in virtù di un'alta affinità per i pigmenti ematici.



Fig. 34. In presenza di edema maculare di natura diabetica, il trattamento laser, condotto in modo mirato sulle alterazioni microvascolari, conduce all'obliterazione delle stesse ed al successivo riassorbimeoto del liquido.

*Fotocoagulazione laser in altre malattie corioretiniche*

La fotocoagulazione laser, eseguita con gli stessi principi di trattamento della retinopatia diabetica, viene anche eseguita in un gruppo di malattie vascolari retiniche caratterizzate dalla presenza di aree retiniche ischemiche più o meno estese. Nel novero di queste alterazioni rientrano gli esiti di occlusioni, centrali o di branca, della vena retinica, gli esiti di vasculite retinica (ad es. malattia di Eales), le retinopatie proliferanti in corso di emoglobinopatie.

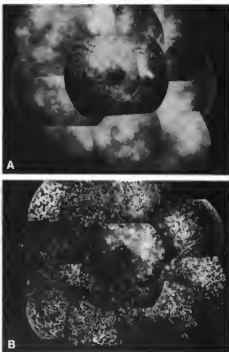
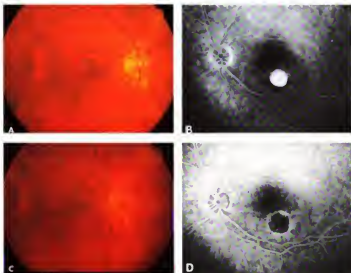



Fig. 35. Il trattamento laser, eseguito sulle aree di retina ischemica responsabili della formazione dei neovasi (*A*), conduce alla regressione di quest'ultimi (*B*). La fluorangiografia retinica è l'esame che consente la migliore visualizzazione dei neovasi (che appaiono come aree bianche) e la corretta valutazione dell'efficacia del trattamento condotto.



Digitized by Google

Fig. 36. Aspetto oftalmoscopico (*A*) e fluorangiografico (*B*) di degenerazioni maculari con membrana neovascolare sottoretinica. Il trattamento laser, eseguito sulla base della fluorangiografia, ha condotto alla completa obliterazione delle lesioni neovascolari (*C*, *D*).

Alcune manifestazioni tumorali vascolari retiniche, come le angiomatosi (malattia di Von Hippel, malattia di Leber-Coats), costituiscono un'indicazione al trattamento laser, in quanto con la fotocoagulazione si riesce ad occludere direttamente le abnormi dilatazioni vascolari e le formazioni tumorali.

Un'altra serie di malattie della retina e della coroide che colpiscono elettivamente la regione centrale e che possono trarre beneficio dal trattamento fotocoagulativo sono le degenerazioni maculari. Patogeneticamente tali lesioni sono tutte caratterizzate dalla penetrazione nello spessore della retina di un vaso coroideale che, accompagnandosi ad una impalcatura fibrosa più o meno importante, scompagina l'architettura della retina neurosensoriale danneggiandola in modo irreversibile. Scopo del trattamento è, in questi casi, quello di produrre un'obliterazione del vaso coroideale limitando il più possibile l'estensione dei danni (fig. 36).

Gli strumenti laser più usati in queste forme sono quelli che consentono di ottenere un effetto coagulativo massimo a livello della coriocapillare e dell'epitelio pigmentato retinico. Tra tutti è quindi da preferire il laser a colorante organico, il laser a krypton e l'argon monocromatico verde.

Un'altra patologia corioretinica che trae giovamento dal trattamento fotocoagulativo è la corioretinopatia sierosa centrale. Questa affezione che colpisce individui giovani adulti, determina un edema della regione maculare responsabile di una riduzione dell'acuità visiva. Il trattamento laser è in questi casi rivolto a creare una cicatrizzazione a livello di quell'area dell'epitelio pigmentato dove esiste l'alterazione responsabile dell'affezione. Anche in questo caso sono indicati i laser che producono i massimi effetti a livello dell'epitelio pigmentato retinico (laser a colorante organico, argon verde, krypton). Va precisato comunque che è stata dimostrata la natura benigna di questa affezione che spontaneamente tende verso la guarigione. Il trattamento laser consentirebbe solo di accelerare un processo evolutivo che è diretto verso la ripresa funzionale.

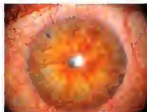
Infine esiste una vasta gamma di altre affezioni retiniche e coroideali per le quali l'indicazione al trattamento può essere discussa (tumori, coroiditi, etc.).

*Laser e glaucoma*

Già nel 1965 il glaucoma (v.; v.*) è stato dichiarato, dal Consiglio Superiore di Sanità, malattia sociale. Tale definizione trova conforto nei dati forniti dal Comitato Internazionale per la Prevenzione della Cecità dai quali risulta che il glaucoma è responsabile del 20% di tutte le forme di cecità nel mondo.

Il glaucoma è anch'esso una patologia oculare nella quale trova indicazione il trattamento con il laser. Grazie alla terapia laser possono essere ottenuti risultati sia nel caso che il paziente sia affetto da glaucoma cronico semplice sia che sia portatore di una forma acuta di glaucoma ad angolo stretto. Ciò consente di limitare in modo sempre più cospicuo le indicazioni al trattamento chirurgico che, in tempi non lontani, rappresentava l'unico approccio terapeutico possibile. Il tipo di trattamento laser che viene eseguito e il tipo di apparecchiature di cui si fa uso, differiscono a seconda della forma di glaucoma di cui il paziente è portatore. Nel caso del glaucoma ad angolo stretto viene ese-

Fig. 37. L'iridotomia può essere agevolmente eseguita mediante Nd:YAG laser, allo scopo di porre rimedio ad un attacco di glaucoma acuto o prevenirne la comparsa in occhi predisposti.

Digitized by Google

guita un'*iridotomia* mediante il laser Nd:YAG. Tale intervento, una volta eseguito chirurgicamente, consente di approfondire la camera anteriore e, facilitando il passaggio dell'umore acqueo dalla camera posteriore a quella anteriore, previene il determinarsi degli attacchi di glaucoma acuto (fig. 37).

Nel caso del glaucoma cronico si ricorre invece ai laser ad argon blu-verde o krypton, mediante i quali vengono eseguite delle fotocoagulazioni a livello del trabecolato sclerocorneale. La retrazione cicatriziale che fa seguito al trattamento determina un ampliamento degli spazi che sono deputati al deflusso dell'umore acqueo. Ne deriva una maggiore facilità al deflusso dell'acqueo e, pertanto, un abbassamento della pressione intraoculare. Anche questo tipo di risultato, fino a pochi anni addietro, poteva essere ottenuto solo mediante il ricorso all'intervento chirurgico.

**Fotoresezione laser**

All'inizio degli anni '80 sono stati introdotti nella terapia oculistica altri tipi di laser di alta potenza e precisamente i laser a Nd:YAG a impulsi corti (ns) e ultra corti (ps).

Questi tipi di laser possono agire su strutture molto resistenti e non pigmentate, al contrario dei comuni fotocoagulatori che possono agire solo se le radiazioni sono assorbite da un tessuto pigmentato (emoglobina del sangue, pigmento retinico). Il laser Nd:YAG esplica sui tessuti oculari effetti fotomeccanici (v. sopra, coll. 4312 e 4327).

*Indicazioni alla fotoresezione con laser a Nd:YAG*

Abbiamo già accennato, nel paragrafo dedicato al trattamento del glaucoma, alle possibilità offerte dal Nd:YAG laser nella terapia dei pazienti portatori di una camera anteriore bassa. I campi di applicazione degli strumenti a laser Nd:YAG pulsato sono però molto più vasti e qui di seguito sarà fatto un rapido elenco delle attuali indicazioni.

1. *Cataratta secondaria*. – Va sotto il nome di cataratta secondaria una membrana opaca che si può formare dopo l'intervento di estrazione extracapsulare della cataratta. L'apertura di tale membrana è spesso vissuta in modo traumatico dal paziente che mal sopporta di sottoporsi ad un nuovo intervento chirurgico. Il laser Nd:YAG consente la apertura della cataratta secondaria con l'impiego di pochi impulsi laser (fig. 38). Tale trattamento è possibile anche in presenza di cristallino artificiale.

2. *Microchirurgia nella traumatologia oculare*. – Nel caso degli esiti di trauma bulbare trova sovente indicazione il trattamento con laser Nd:YAG. In questi casi si rende possibile, senza l'apertura del bulbo traumatizzato, la sezione di sinechie, l'apertura di membrane, la distruzione di masse catarattose, etc.

3. *Microchirurgia del vitreo anteriore e posteriore*. – Briglie irido-vitreali o vitreo-retiniche (fig. 39), impegni vitreali nella sutura chirurgica dopo l'intervento di estrazione della cataratta, possono essere trattati con ottimi risultati mediante il laser Nd:YAG.

4. *Distruzione di corpi ciliari nel glaucoma refrattario*. – Recentemente il laser Nd:YAG è stato impiegato in modo «continuo» e non «impulsato» con applicazioni transcongiuntivali sui corpi ciliari per il trattamento del glaucoma refrattario ad ogni altra terapia. La distruzione dei corpi ciliari consente di ridurre la produzione di umore acqueo, riducendo il tono oculare a valori più bassi o, perlomeno, non associati a sintomatologia algica.

**Fotoablazione laser**

La fotoablazione è un fenomeno di rimozione controllata di materiale dalla superficie di un tessuto; si ritiene che tale

Fig. 38. Pochi impulsi laser eseguiti mediante Nd:YAG sono sufficienti per perforare la cataratta secondaria e consentire il completo recupero funzionale.

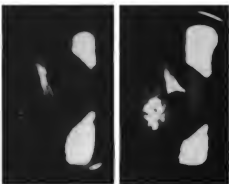
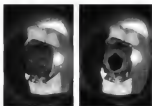



Fig. 39. Fotoresezione, mediante Nd:YAG laser pulsato, di una briglia retino-vitreale che esercitava trazione sul piano retinico. Sono apprezzabili gli esiti cicatriziali del trattamento fotocoagulativo preliminare, eseguito in sede contigua allo scopo di ischemizzare la proliferazione fibrovascolare.

effetto origini dalla combinazione di un alto assorbimento della radiazione ultravioletta nei polimeri organici e di un'elevata energia disponibile nella radiazione laser, sì da provocare la rottura di legami organici con formazione di prodotti volatili ed ablazione del tessuto.

Il laser che sfrutta tale effetto è il *laser a eccimeri* (v. sopra, coll. 4315 e 4327) che è stato recentemente introdotto nella pratica clinica, ma che è già giudicato di grande interesse dal momento che consente sezioni chirurgiche con una precisione che il microscopio elettronico dimostra essere enormemente superiore a quella del bisturi.

La fotoablazione corneale con laser ad eccimeri viene impiegata per interventi di *chirurgia refrattiva* e nell'ambito della *cheratoplastica* perforante.

Le cheratectomie lamellari, come proposte da Marshall *et al.* (1988) e da L'Esperance (1989), sono realizzate con meccanismi diversi. Il più semplice, iniziale, consiste in un diaframma variabile di tipo irideo, analogo a quello delle macchine fotografiche, che, chiudendosi progressivamente, determina maggiore ablazione verso il centro; gli scalini che si ottengono fra due scatti consecutivi di chiusura, non permettono una riepitelizzazione ottimale.

Altri sistemi più sofisticati, capaci di produrre un fascio circolare, variabile a seconda del diametro considerato, e ablazioni uniformi su tutta l'area esposta, sono stati presentati da McDonald, Clapham, Hanna.

La tendenza di questo tipo di tecnica è di lasciare al computer del laser il compito di modificare in modo pro-



Digitized by Google

gressivo la profondità dell'ablazione, dopo averne programmato ampiezza e profondità.

Le fotoablazioni corneali a scopo refrattivo sono praticate clinicamente da pochissimo tempo, in prevalenza come parte di sperimentazioni, e le procedure non sono, pertanto, ancora ben codificate.

Ulteriori applicazioni della terapia con laser a eccimeri sono state suggerite nell'ambito della chirurgia del glaucoma e, sempre nell'ambito della chirurgia corneale, per l'esecuzione di alcune fasi dell'intervento di epicheratofachia, cheratomileusi, trapianto corneale.

**Conclusioni**

L'avvento della tecnologia laser ha consentito il trattamento di patologie che, non molti anni addietro, vedevano l'oculista assistere impotente alla loro evoluzione. È questo il caso della retinopatia diabetica, delle degenerazioni maculari, delle occlusioni venose.

Per molti altri tipi di patologie l'introduzione degli strumenti laser ha inoltre comportato un'autentica rivoluzione terapeutica. A questa seconda categoria appartengono il glaucoma, la cataratta secondaria, i tumori, le degenerazioni retiniche periferiche, etc.

Di certo però le considerazioni riguardo ai vantaggi che ha comportato l'introduzione del laser in oculistica non si possono limitare ai migliori risultati terapeutici. Enorme importanza ha infatti anche il diverso tipo di assistenza che queste tecniche consentono di offrire al malato. Nella grande maggioranza dei casi si tratta di trattamenti ambulatoriali, eseguibili senza necessità di anestesia, di ricovero o di particolari trattamenti successivi.

Infine rilievo opportuno va dato ai risparmi in termini di economia sanitaria consentiti dal trattamento laser: enormi, se solo si considera il numero di interventi chirurgici e giornate di degenza che, grazie ad esso, possono essere evitati. Il futuro vedrà indubbiamente ampliate le indicazioni al trattamento laser. I nuovi apparecchi, in via ancora di sperimentazione, lasciano intravedere prospettive rosee non solo nel campo terapeutico, ma anche in quello diagnostico.

**Bibliografia**

Brancato R., Leoni G., Trabucchi G. *et al.*, *Am. J. Ophthalmol.*, 1989, **103**, 104.
Brancato R., Lumbroso B., *Microchirurgia oculare con Nd:YAG laser*, 1984, Ghedini Ed., Milano.
Brancato R., Menchini U., *Microchirurgia laser in oftalmologia*, 1989, Ghedini Ed., Milano.
Brancato R., Pratesi R., *Laser and Light in Ophthalmology*, 1987, **1**, 119.
L'Esperance F. A. jr., *Ophthalmic Lasers*, 1989, Mosby, St. Louis.
Marshall J., Trokel S. L., Rothery S. *et al.*, *Ophthalmology*, 1988, **95**, 1411.
Puliafito C. A., Steinert R. F., Deutsch T. F. *et al.*, *Ophthalmology*, 1985, **92**, 741.

ROSARIO BRANCATO, FRANCESCO BANDELLO E ROSANGELA LATTANZIO

## LASER IN DERMATOLOGIA

**Introduzione**

La limitata conoscenza degli effetti prodotti dalle radiazioni dei laser con emissione nel visibile, ultravioletto e infrarosso ha consentito finora, in dermatologia, poche applicazioni terapeutiche veramente mirate. In dermatologia i tipi di laser più impiegati sono quelli ad argon e a $CO_2$.

**Trattamento delle lesioni vascolari della cute (emangiomi e teleangectasie)**

Il *laser ad argon*, che esplica un effetto relativamente selettivo sui vasi sanguigni con conservazione degli elementi tessutali adiacenti, è utilizzato nel trattamento di lesioni vascolari (Dixon, 1984). Le righe a 488 e 514 nm di questo laser sono assorbite da strutture ricche di ossiemoglobina 10 volte di più che dal derma non vascolarizzato e 1,5-2 volte di più dell'epidermide. Con laser in funzionamento continuo o pulsato viene trattato un gran numero di lesioni vascolari cutanee a carattere venoso, arterioso ed artero-venoso, superficiali o poco profonde (teleangectasie [fig. 40], ectasie aracneiformi, rosacea con abbondante componente ectasica, laghi venosi e granulomi piogenici, etc.) anche se per tali lesioni sono acquisite altre valide tecniche.

Fig. 40. Le teleangectasie sono le lesioni vascolari in cui trova indicazione l'impiego del laser.

**TAB. III. APPLICAZIONI DEL LASER AD ARGON**

| **Lesioni vascolari** |
|---|
| Angiomi piani * |
| Teleangectasie * |
| Ectasie aracneiformi |
| Laghi venosi |
| Rosacea con ampia componente ectasica * |

* Applicazioni elettive: risultati migliori rispetto a tecniche alternative (crioterapia, coagulazione I.R., diatermia)

Le applicazioni meglio stabilite del laser ad argon sono riassunte in tab. III. Viene in genere utilizzato un fascio laser di 0,5-2 mm di diametro con potenza in uscita variabile tra 0,5 e 4,5 W, con sequenze di impulsi ogni 0,3-0,4 sec, della durata di 0,2-0,3 sec.

In fig. 41 è mostrato il fascio di un laser ad argon e nella fig. 42 un paziente affetto da angioma piano, prima e durante il trattamento.

Poiché lo spettro di assorbimento dell'ossiemoglobina ha un secondo picco a 577 nm, anche con una riga in questa

Fig. 41. Lo *spot* dell'argon laser.





Digitized by Google

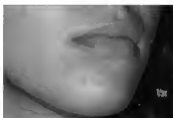



Fig. 42. *A sinistra*, angioma piano del volto prima del trattamento con argon laser. *A destra*, lo stesso caso in corso di terapia.

lunghezza d'onda emessa con laser a colorante (*dye-laser*; ad es. rodamina 6) si ottengono risultati positivi con un limitato effetto termico sulle strutture non vascolarizzate, mentre rimangono intatti epidermide, fibroblasti e fibre connettivali (Gange *et al.*, 1984). Si attua così una «fotodermolisi selettiva vascolare superficiale» senza alcun residuo cicatriziale.

**Trattamento di lesioni cutanee varie**

Il laser ad argon non si è dimostrato superiore rispetto ad altre metodiche (crioterapia, diatermia e fotocoagulazione con infrarosso) nel trattamento di *verruche, condilomi, cheratosi attiniche, cheratosi seborroiche, basaliomi*, etc.

Lo *spot* defocalizzato del *laser a* $CO_2$ consente la selettiva e precisa vaporizzazione di liquidi tessutali in piccole aree, con trascurabile diffusione di energia termica alle strutture vicine (Olbrieht e Arndt, 1988). In tab. IV sono riportate alcune condizioni patologiche nelle quali può essere utilizzato il laser a $CO_2$. Sono messe in evidenza le applicazioni *elettive*, per le quali cioè i risultati sono migliori rispetto a tecniche alternative, come nel caso di rinofima, linfangioma circoscritto, ampie condilomatosi, cheilite attinica. Nella tab. V sono riportati i vantaggi e gli svantaggi nell'impiego del laser a $CO_2$. Gli schemi di trattamento prevedono l'uso di laser pulsato di 15-25 W di potenza con

**TAB. IV. APPLICAZIONI DEL LASER A $CO_2$**

I. **Vaporizzazione**
- A. *Lesioni vascolari*
  - Linfangioma circoscritto*
  - Granuloma piogenico
  - Angiocheratoma
  - Lago venoso
- B. *Altre lesioni*
  - Cheilite attinica
  - Eritroplasia di Queyrat
  - Papillomatosi orale florida*
  - Siringoma
  - Balanite xerotica obliterante*
  - Tricoepitelioma
  - Xantelasma

II. **Taglio e vaporizzazione**
- Condilomi acuminati giganti*
- Rinofima*

III. **Taglio**
- Tessuti vascolarizzati
- Pazienti particolari (disturbi emorragici, pazienti con *pacemaker*, etc.)

* Applicazioni elettive: risultati migliori rispetto a tecniche alternative (laser ad argon, crioterapia, coagulazione I R., diatermia).

**TAB. V. VANTAGGI E SVANTAGGI DEL LASER A $CO_2$**

**Vantaggi**
- Netto limite della distruzione
- Emostasi relativa
- Minimi edema e dolori post-operatori
- Studio istopatologico possibile

**Svantaggi**
- Misure di sicurezza (occhiali, estintori, strumenti chirurgici ricoperti)
- Assicurazione per rischi operatori e ustioni accidentali
- *Training* del personale addetto
- Tempo operativo elevato per alcune pratiche
- Necessità di approfondire l'uso del manipolo e del braccio articolato (non fibra)
- Odore di «bruciato»; particelle 0,1-1 μm nel fumo inalabile (pericolo virus, ad es. HPV, etc.?)
- Costo elevato strumento, manutenzione, sistemi aspiratori fumo, occhiali protezione

uno *spot* di 2 mm di diametro, il che consente di somministrare basse dosi di energia (478-796 J/cm$^2$). Anche in questo caso si preferisce utilizzare la modalità pulsata di trattamento.

Nel trattamento dei *cheloidi* molto limitata è l'efficacia del laser a $CO_2$ o l'irradiazione con argon, per cui sono utilizzate terapie integrate (con cortisonici, crioterapia, etc.), nelle quali tuttavia analoghi o migliori risultati si hanno con fotocoagulatore a infrarosso. Il *laser a Nd:YAG* è risultato notevolmente efficace, provocando inibizione proliferativa dei fibroblasti (v. sotto: *biostimolazione*).

Il trattamento laser delle *ulcere da stasi venosa* degli arti inferiori e delle *ulcere da decubito* non presenta vantaggi rispetto alle terapie locali tradizionali.

**Uso «dermoestetico» del laser**

Irradiazioni laser a bassa densità di potenza (*laser a diodi*) sono proposte in diverse situazioni «inestetiche» come *cellulite* e *atrofie* cutanee. In particolare è stato usato il *laser ad arseniuro di gallio (GaAs)* (904 nm). Non esistendo sicuri dati dimostrativi della loro efficacia, queste applicazioni hanno una validità solo presunta. La irradiazione con laser a bassa densità di potenza da sola non induce, in realtà, miglioramenti estetici e il nome di *laser estetico* è stato impropriamente adoperato.

**Applicazioni in fase di studio**

L'estrapolazione al campo clinico di positive attività biologiche ha condotto spesso a conclusioni applicative non valide. I laser hanno un elevato costo, ampiamente giustificato solo nelle indicazioni per le quali altri metodi non siano altrettanto soddisfacenti ed efficaci. Allo stato attuale





Digitized by Google

sono in corso di approfondimento le indicazioni terapeutiche elettive e le condizioni ottimali di trattamento (dosi irradiative, schemi di trattamento, modalità di irradiazione [pulsata o continua] etc.).

*Fotodiagnostica*

Numerose dermatosi possono essere provocate dalla luce solare. Attualmente la loro diagnosi dipende in gran parte dai *fototest*: mediante fotostimolazione della cute si riproducono lesioni analoghe a quelle spontanee. Vengono attualmente utilizzate sorgenti irradiative tradizionali con lampade a vapori di mercurio a bassa pressione o lampade metallo-alogene, con chiari svantaggi. L'impiego dei laser nell'U.V.A. e nel visibile potrebbe permettere una precisa definizione degli spettri d'azione di alcune fotodermatosi (ad es. orticaria solare).

*Fototerapia selettiva*

La *fototerapia selettiva*, meglio che con le convenzionali sorgenti U.V., può essere realizzata con laser. Nella psoriasi, ad es., è noto che la radiazione monocromatica a 313 nm presenta maggiore efficacia rispetto alla irradiazione a banda larga. Rispetto alle comuni sorgenti, l'elevata energia e monocromaticità del laser permetterà invece: selettività irradiativa, dosaggio elevato e preciso, e pertanto esposizione per tempi più brevi e circoscrizione dell'irradiazione alle sole aree cutanee colpite.

*Fotochemioterapia*

Analogamente, la fotoattivazione con laser di particolari strutture molecolari (*fotochemioterapia*) consente il trattamento di svariate malattie dermatologiche iperproliferative (ad es. psoriasi), discromiche (ad es. vitiligine), neoplastiche (ad es. micosi fungoide) che vengono trattate con raggi U.V. L'utilizzazione di laser nell'U.V. lungo o meglio nel visibile unito all'impiego di molecole che si legano a strutture fondamentali per la vita cellulare ma non agli acidi nucleici (come avviene per gli psoraleni nella PUVA) può consentire di evitare effetti nocivi.

**Biostimolazione**

È stato riportato nel passato che radiazioni laser elio-neon (He-Ne, etc.) applicate a bassa densità di potenza, in condizioni quindi non chirurgiche e coagulative, possiedono effetti antinfiammatori, analgesici e soprattutto rigenerativi delle ferite e delle piaghe. Il complesso degli studi ed applicazioni è comunemente noto con il nome di *biostimolazioni* e *bioregolazione*.

Studi sulla *riparazione delle ferite* sono stati effettuati su cute di diversi animali. Su cute di suino, che presenta meccanismi di riparazione simili a quelli della cute umana, nonché su cute di coniglio, l'irradiazione a basse dosi di energia non accelera apprezzabilmente la guarigione di ferite (Hunter *et al.*, 1984). Si ha tuttavia aumento della velocità di riparazione e di produzione del collagene in ratti e stimolo alla produzione di procollageno in linee di fibroblasti umani a basso livello iniziale di attività. L'irradiazione provoca alterazioni nelle proprietà di componenti cellulari (Passarella *et al.*, 1982). Nessun effetto è stato riscontrato sulla proliferazione cellulare. Dosi anche di 1000 J/cm² non modificano la riproduzione di cellule normali.

L'irradiazione laser He-Ne a basse dosi di energia sembra stimolare i fibroblasti, ma non migliora l'epitelizzazione (Kana e Hutschenreiter, 1981). Studi *in vitro* hanno evidenziato aumento del numero dei fibroblasti umani, non ottenibile con luce incoerente. Nella applicazione clinica, tuttavia, i primi studi sulla riparazione delle ulcere cutanee si sono rivelati di difficile interpretazione poiché gli effetti del laser ad He-Ne non sono stati comparati in tali ricerche cliniche con quelli di luce incoerente e non sono stati determinati precisamente i regimi di esposizione (Mester *et al.*, 1971; Kovàcs *et al.*, 1972). Uno studio controllato («Progetto finalizzato applicazioni mediche dei Laser» del Consiglio Nazionale delle Ricerche) sull'effetto del laser He-Ne sulle ulcere cutanee (ulcere da stasi degli arti inferiori), condotto in doppio cieco, con gli opportuni controlli, non ha evidenziato effetti biostimolanti o differenze di epitelizzazione tra le aree trattate e quelle di controllo (Santoianni *et al.*, 1984). L'alternanza di dati non sufficientemente documentati ha indotto già nel 1983 la Food and Drug Administration (USA) a diffidare i costruttori a pubblicizzare presunte proprietà terapeutiche dei laser a He-Ne.

Il laser He-Ne è stato da taluni impiegato per trattare *edemi*, *linfangiti* e *algie* conseguenti ad interventi per neoplasie. Tuttavia i dati sperimentali su cellule tumorali sono incerti e inesistenti i risultati clinici.

Anche l'irradiazione con *laser ad argon* è stata provata nelle *ulcere da decubito*. In condizioni sperimentali controllate la stimolazione della proliferazione cellulare è apparsa molto discutibile. In studi su ratti non è stata riscontrata una significativa influenza sui tempi di guarigione delle cicatrici (con dosaggi di 1 e 4 J/cm²). Dati sperimentali indicano invece danni citogenetici e alterazioni cromosomiche in linfociti umani esposti a differenti dosi irradiative.

Il *laser a rubino* ha mostrato effetti su cellule e attività enzimatiche, tuttavia l'incremento della velocità di riparazione di ulcere di diverso tipo non è significativo. L'irradiazione con *laser ad arseniuro di gallio* (GaAs) (904 nm) induce aumento di collagene (in condizioni sperimentali; Abergel *et al.*, 1984), mentre inibisce la duplicazione del DNA e non aumenta la proliferazione cellulare.

Con il *laser a neodimio:YAG* (1064 nm) si può inibire la produzione di collagene e la sintesi di DNA in fibroblasti umani (Castro *et al.*, 1983). Una certa inibizione della produzione di collagene è stata dimostrata in misura maggiore nei fibroblasti provenienti da *cheloidi* che in quelli da cute normale.

In conclusione gli studi di biostimolazione difettano nella gran parte del dovuto rigore e controllo circa sicure indicazioni. I dati acquisiti non forniscono alcuna base scientifica né clinicamente provata per effetti terapeutici significativi della radiazione laser, somministrata a bassa densità di potenza, per cui è oggi adottato un atteggiamento di prudente valutazione al riguardo.

**Bibliografia**


Abergel R. P. *et al.*, *J. Am. Acad. Dermatol.*, 1984, **11**, 1142.
Castro D. J., Abergel C. P., Johnston K. J., *Ann. Plast. Surg.*, 1983, **11**, 131.
Dixon J. A., *Argon Laser Treatment of Port Wine Stains*, in Arndt K. A., Noe J. M., Rasen S. eds., *Cutaneous Laser Therapy*, 1984, John Wiley, Chichester, p. 109.
Gange R. W. *et al.*, *Microvasc. Res.*, 1984, **28**, 125.
Hunter J. *et al.*, *Lasers Surg. Med.*, 1984, **3**, 285.
Kana J. S., Hutschenreiter G., *Arch. Surg.*, 1981, **116**, 293.
Kovàcs I., Mester E., Gorog P., *Experientia*, 1972, **30**, 1275.
Mester E., Spiry T., Szende B., Tota J., *Ann. J. Surg.*, 1971, **122**, 532.
Olbricht S. M., Arndt K. A., *Mayo Clin. Proc.*, 1988, **63**, 297.
Parrish J. A., *Laser in Dermatology*, in Pratesi R. ed., *Optronics Techniques in Diagnostic and Therapeutic Medicine*, 1991, Plenum Press, New York.
Passarella S. *et al.*, *Bull. Mol. Biol. Med.*, 1982, **7**, 25.
Regan J. D., Parrish J. A. eds., *The Science of Photomedicine*, 1982, Plenum Press, New York.
Santoianni P. *et al.*, *Photodermatology*, 1984, **1**, 245.
Svelto O., *Principles of Laser*, 1986, 2 ed., Plenum Press, New York.


PIETRO SANTOIANNI





Digitized by Google

## FOTOCHEMIOTERAPIA ENDOSCOPICA DEI TUMORI

### Introduzione

La terapia fotodinamica (PDT, *Photo Dynamic Therapy*) rappresenta un trattamento sperimentale per i tumori solidi. Essa è basata sulla attivazione di una sostanza fotosensibilizzante da parte di una radiazione luminosa. La reazione fotodinamica produce un danno nel tessuto che contiene il farmaco fotosensibilizzante quando viene esposto alla luce in presenza di ossigeno.

L'idea di trattare i tumori con farmaci fotosensibilizzanti risale agli inizi del novecento; già nel 1903, infatti, erano noti gli effetti citotossici dell'applicazione locale di eosina combinata con l'esposizione alla luce solare. Nel 1924 Policard osservò che i tumori animali ed umani esposti alla luce di una lampada di Wood emettevano fluorescenza rossa. La presenza di tale fluorescenza fu attribuita a porfirine endogene accumulate nei tessuti in seguito ad infezione di batteri emolitici. Nel 1942 Auler e Banzer riportarono la comparsa di fluorescenza in tumori animali dopo somministrazione sistemica di ematoporfirina (Hp) e nel 1960 Lipson e coll. sintetizzarono l'ematoporfirina derivato (HpD), costituito da un composto di porfirine ottenuto trattando l'Hp con acidi acetico e solforico. Gli AA. dimostrarono che l'HpD veniva accumulato selettivamente nei tessuti neoplastici ed in quelli con intensa attività proliferativa; in tal modo riuscirono ad individuare endoscopicamente per la prima volta tessuto neoplastico maligno nell'albero respiratorio e nel tratto digestivo superiore mediante analisi della fluorescenza.

Con lo sviluppo dei laser sono state ulteriormente studiate la diagnosi a fluorescenza e soprattutto la PDT; è stato dimostrato inoltre che, a differenza di quanto avviene con la luce filtrata, la radiazione laser consente di ottenere l'energia luminosa necessaria con una banda molto ristretta (lunghezza d'onda 630 nm).

### Fotosensibilizzanti

Dopo le osservazioni iniziali, l'HpD è stato l'agente fotosensibilizzante più usato. Le sostanze biologicamente fotoattive possono essere distinte in : *a)* fluorocromi naturali, come le porfirine; *b)* fluorocromi esogeni, come l'arancio acridina, la fluoresceina e la rodamina; c) fluorocromi endogeni, come le flavoproteine e la cheratina. La maggior parte degli studi riguarda il primo gruppo di fluorocromi naturali e loro derivati, poiché essi vengono attivati con la lunghezza d'onda (600-690 nm) che penetra nei tessuti biologici più in profondità di lunghezze d'onda minori, necessarie per attivare altri fluorocromi. Particolarmente importanti sono gli studi riguardanti la fototossicità indotta da ftalocianine. Attualmente vengono studiati anche altri farmaci, di cui si farà cenno sotto (col. 4366; v. anche sopra, col. 4338).

### Strumentazione

Esistono diverse possibilità di ottenere una radiazione luminosa con lunghezza d'onda penetrante in quantità sufficiente per la PDT. La luce con lunghezza d'onda di 600-700 nm è la più penetrante. È possibile ottenere queste lunghezze d'onda con lampade filtrate per trattamenti superficiali, ma quando è necessario trattare un tumore endocavitario per via endoscopica e la luce deve essere trasmessa su fibre ottiche, sono indispensabili specifiche caratteristiche della radiazione quali l'intensità, la coerenza e la monocromaticità. I laser costituiscono la miglior fonte di radiazioni poiché le risposte fotobiologiche prodotte dall'interazione laser-tessuto (v. sopra, col. 4323) possono essere quantitativamente e qualitativamente differenti da quelle generate da fonti di luce convenzionali.

I vantaggi dei laser possono essere così sintetizzati: *a) intensità*: è importante per produrre effetti che richiedano alte dosi di energia; effetti termici o fotodinamici possono essere indotti variando separatamente picco e potenza media. Alti picchi di potenza possono produrre un danno termico circoscritto ed elevate potenze medie provocano più facilmente danno termico su ampi volumi tessutali piuttosto che effetti fotodinamici; *b) coerenza*: è importante per dirigere e focalizzare la radiazione su piccole aree; c) *monocromaticità*: consente la selezione dei cromofori all'interno dei tessuti e risposte fotobiologiche selettive.

I laser più utilizzati per la PDT sono: 1) Ar-laser (488-514 nm), con limitata penetrazione. 2) *Dye laser* (laser a colorante organico), cioè rodamina-B laser (630 nm, accordabile), il più utilizzato per la PDT. 3) Laser a vapori d'oro (628 nm); è stato effettuato un confronto tra laser a vapori d'oro e laser a colorante organico per la PDT e sembra che l'installazione e il funzionamento del laser a vapori d'oro siano più semplici, anche se esso richiede una fibra di diametro maggiore per la trasmissione della luce. La lunghezza d'onda del laser a colorante organico è regolabile mentre quella del laser a vapori d'oro è fissa; quest'ultimo può essere trasformato in un laser a vapori di rame a 510 e 578 nm e utilizzato per pompare un laser a colorante organico.

### Metodi di irradiazione

L'irradiazione dei tumori può essere ottenuta mantenendo la fibra a distanza o a contatto con il tessuto. La valutazione dell'energia somministrata è differente nei due casi: se la fibra è mantenuta a distanza, l'energia è espressa in Joule (J)/cm$^2$; se una fibra a terminazione piana è inserita nel tessuto, l'energia è espressa semplicemente in J; se invece nel tessuto è inserita una fibra che irraggia circolarmente, l'energia è espressa in J/cm di fibra inserita. Tra l'estremità della fibra e il tessuto possono essere utilizzati differenti sistemi per la diffusione della luce, come soluzioni, punte di zaffiro o microlenti. Le soluzioni possono essere contenute all'interno di palloncini attaccati all'estremità di una fibra o dell'endoscopio.

### Campi di applicazione della PDT

*Cute*

Presentano indicazione per la PDT i tumori primitivi estesi, multicentrici o localizzati in sedi critiche, per i quali le metodiche tradizionali di trattamento sono considerate inappropriate. Sono state trattate in questo modo anche metastasi cutanee e sottocutanee di neoplasie della mammella.

*Tumori ginecologici*

a) Il carcinoma primitivo della vagina, specialmente quando localizzato nel terzo superiore, è difficile da trattare con le modalità convenzionali poiché in seguito ai rapporti anatomici con il retto e la vescica è possibile la comparsa di fistole;

b) ulcere neoplastiche della vulva con infiltrazione superficiale, anche se molto estese;

c) carcinoma intraepiteliale della cervice uterina. Il possibile coinvolgimento della porzione profonda delle ghiandole della cervice da parte del processo neoplastico fa sì che l'impiego della PDT in questo distretto sia ancora in corso di valutazione. L'efficacia della PDT nella completa distruzione delle ghiandole della cervice deve ancora essere dimostrata.

*Testa e collo*

Tumori cutanei e mucosi di questi distretti, specialmente quando localizzati in posizioni critiche. È stato dimostrato



Digitized by Google

che carcinomi del volto, della lingua, del rinofaringe, della laringe e delle corde vocali rispondono alla PDT.

*Occhio*

Sono state proposte diverse interessanti applicazioni della PDT in oftalmologia: melanomi maligni della coroide e retinoblastomi hanno risposto alla terapia. Nei casi di melanomi altamente pigmentati, si ritiene che un effetto termico dovuto alla elevata quantità di energia utilizzata sia un fattore terapeutico molto importante nel trattamento di queste lesioni. Recentemente sono state proposte particolari indicazioni come il controllo della proliferazione epiteliale del cristallino secondaria all'intervento chirurgico per cataratta.

*Cervello*

Sono stati riportati studi clinici su pazienti con tumori cerebrali irradiati in superficie o per infissione di fibra ottica sia con tecnica stereotassica che chirurgica, ma è ancora troppo presto per valutare i risultati. Il farmaco fotosensibilizzante può essere somministrato sia per via topica che sistemica.

*Sistema vascolare*

Può essere dimostrato con metodiche di fluorescenza, per mezzo di illuminazione con luce violetta, che le placche ateromatose sono in grado di captare porfirine. Ciò è probabilmente dovuto alla ricca vascolarizzazione che consente alle porfirine di raggiungere le placche, anche se si ritiene che altri meccanismi possano essere coinvolti in questo processo. Su queste basi è possibile utilizzare la PDT in arterie occluse da ateromi, per rimuovere o ridurre placche ateromatose con metodiche di trattamento sovrapponibili a quelle usate per la PDT in altri distretti corporei. Anche se la PDT appare efficace nel trattamento di ateromi, molti problemi si presentano nelle applicazioni cliniche.

*Trattamenti endoscopici*

La PDT si è dimostrata particolarmente efficace soprattutto nel trattamento di piccoli tumori con margini macroscopicamente indefiniti, o in casi di tumori multicentrici. Queste condizioni si presentano soprattutto nel tratto digestivo superiore (fig. 43) ed inferiore, nella trachea (fig. 44), nei bronchi e nella vescica. Nel 1980 Hayata, del Tokyo Medical College, iniziò studi clinici sull'applicazione endoscopica della PDT, e a tutt'oggi ha accumulato la più vasta esperienza del mondo nei vari campi. In due inchieste internazionali proposte nel 1984 e nel 1986 abbiamo raccolto i dati relativi rispettivamente a 467 e a 912 pazienti. Le inchieste dimostrano che il numero dei centri in cui viene praticata la PDT è in aumento. Geograficamente i centri si sono diffusi in tutto il mondo negli ultimi anni.

Fig. 43. Schema di trattamento endoscopico di carcinoma gastrico con terapia fotodinamica. *A*) Iniezione di HpD. *B*) Fissazione dell'HpD nei tessuti tumorali (dopo 24 h). *C*) Irraggiamento (dopo 48 h). (*Originale Spinelli*).

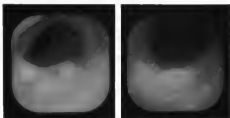



Fig. 44. Tumore in fase precoce (*early*) della trachea. *A sinistra*: prima di eseguire la terapia fotodinamica; *a destra*: dopo il trattamento: si noti la scomparsa della lesione che è sostituita da tessuto cicatriziale, circondato da mucosa iperemica. (*Osservazione Spinelli*).

Fino al 1984, 467 pazienti erano stati trattati in 8 centri; tra il 1984 ed il 1986 il numero dei pazienti è salito a 912 e il numero dei centri a 20. Per quanto riguarda le sorgenti laser, 4 gruppi utilizzano i nuovi laser a vapori d'oro, mentre il Nd:YAG laser è stato abbandonato. Praticamente immutati sono: *a*) i fotosensibilizzanti utilizzati; *b*) l'intervallo di tempo tra iniezione e irradiazione; *c*) le modalità di irradiazione. Per quanto riguarda le aree anatomiche trattate, il numero dei trattamenti della vescica è in aumento. In relazione allo stadio, i tumori *early* sono trattati in misura maggiore rispetto a quelli avanzati; la potenza e l'energia dei trattamenti teodono a diminuire, probabilmente in seguito all'ottimizzazione dei parametri di trattamento. Se si considerano i risultati globali può sembrare che quelli della seconda inchiesta siano peggiori di quelli della prima, ma bisogna tener preseote che nella prima inchiesta in 135 pazienti è stata riportata una risposta completa (CR) in base alla sola valutazione macroscopica (ad es.: la riapertura di un bronco). I risultati dell'inchiesta del 1986 mostrano una CR nel 61% dei tumori *early* e nel 7% di quelli avanzati, una risposta parziale (PR) nel 33% dei tumori *early* e nell'80% degli avanzati. Nessuna risposta (NR) si è ottenuta nel 6% degli *early* e nel 13% degli avanzati.

**Prospettive**

*Sostanze fotosensibilizzanti*

Quella più utilizzata è l'ematoporfirina come ematoporfirina derivato (HpD) e la diematoporfirina etere o estere (DHE), la sua forma attiva. Queste sostanze presentano due limitazioni: fotosensibilizzazione cutanea e bassa penetrazione tessutale della luce alla lunghezza d'onda utilizzata per l'attivazione dei farmaci fotoattivi. La fotosensibilizzazione cutanea, dovuta alla permanenza del farmaco nel corpo fino a 3-4 settimane dopo l'iniezione, rappresenta una reale limitazione alle possibilità di trattamento soprattutto in pazienti ambulatoriali. Soluzione a questo problema può essere rappresentata dalla somministrazione locale dei fotosensibilizzanti, molto difficile però per lesioni non cutanee, o dall'uso di sostanze fotoattive più selettive, che consentano di ridurne il dosaggio, diminuendo così la sensibilizzazione cutanea.

Nuovi farmaci, attualmente in fase di sperimentazione, avendo un alto coefficiente di assorbimento nel vicino infrarosso, sarebbero in grado di aumentare la penetrazione





Digitized by Google

della luce nel tumore. Tra i nuovi farmaci alcuni sono composti derivanti dalla modificazione di porfirine: modificando la struttura del DHE con la conversione di uno o più anelli porfirinici a clorina (DHEC), e legando l'Hp alla clorina. Di grande interesse è anche l'uso delle ftalocianine, che sono composti simili alle porfirine con banda di maggior assorbimento nel rosso; queste sostanze si sono dimostrate in campo sperimentale molto efficaci come fotosensibilizzanti. Lo spettro d'azione della cloralluminioftalocianina (ClAlPC) ha una stretta banda centrata attorno ai 680 nm. La ClAlPC sembra essere circa 50 volte più attiva dell'HpD e lo spostamento verso il rosso del suo spettro d'azione permette una migliore penetrazione nei tumori irraggiati.

*Nuovi laser e modalità di irradiazione*

Nuove sorgenti laser sono attualmente allo studio; di speciale interesse sono i laser a lunghezza d'onda variabile, che consentono di produrre differenti lunghezze d'onda, e nuove modalità di irradiazione con impulsi di breve durata.

*Selezione dei pazienti e protocolli di terapie combinate*

Le indicazioni alla PDT stanno cambiando rispetto ai primi studi. La PDT sembra essere più efficace nel trattamento di piccole lesioni neoplastiche, estese superficialmente su larghe aree, multicentriche. La PDT può essere utilizzata sia con intenti curativi che palliativi; può essere applicata nel trattamento di tumori a vari stadi, dalle lesioni precancerose, al carcinoma *in situ*, al tumore invasivo sia allo stadio *early* che avanzato. La tendenza futura è lo sviluppo di trattamenti dei tumori *early* e delle lesioni precancerose.

**Bibliografia**

Dougherty T. J., *CRC Crit. Rev. Oncol. Haematol.*, 1985, **2**, 83-101.
Hayata Y., Dougherty T. J., *Lasers and Hematoporphyrin Derivative in Cancer*, 1983, Igaku-Shoin Tokyo-New York.
Russo A. *et al.*, *Photodynamic Therapy*, in DeVita V. T., Hellman S., Rosenberg S. A. eds., *Cancer-Principles and Practice of Oncology*, Lippincott, Philadelphia, 2449-2459.
Spinelli P., *Acta Endosc.*, 1983, **13**, 201-206.
Spinelli P., Dal Fante M., *PDT - State of the Art*, in Waidelich W., Kiefhaber P. eds., in *Laser Optoelectronics in Medicine*, Springer Verlag, Berlin, 609-617, 1987.

PASQUALE SPINELLI

## APPLICAZIONI DEL LASER NELLA PATOLOGIA DELL'APPARATO RESPIRATORIO

**Introduzione**

Nell'albero tracheobronchiale, più che in ogni altro distretto dell'organismo, lo sviluppo delle sorgenti laser ha allargato i confini della endoscopia operativa. La disostruzione di un tratto respiratorio parzialmente o totalmente ostruito può essere ottenuta in anestesia locale e in breve tempo anche in pazienti ad alto rischio chirurgico o non operabili e consente di migliorare le condizioni di ventilazione di quei soggetti nei quali i trattamenti convenzionali (chirurgia, chemioterapia, radioterapia) non siano applicabili o non abbiano conseguito i risultati attesi.

Poiché la diagnosi di carcinoma polmonare si fa principalmente in base ai sintomi e poiché questi derivano dalla presenza di malattia in stato avanzato, la maggior parte dei carcinomi del polmone è trattabile solo palliativamente già al momento della diagnosi. Ciò è conseguenza anche della precoce diffusione linfatica ed ematica della malattia a causa degli stretti rapporti che l'epitelio broncopolmonare ha con i linfatici mediastinici e con le terminazioni vascolari polmonari e sistemiche.

La radiazione laser può raggiungere l'albero respiratorio lungo broncoscopi rigidi con sistemi a specchi montati su bracci articolati o lungo fibre ottiche introdotte nei canali operativi dei fibroscopi. Il primo sistema è stato usato per trasmettere la radiazione del laser ad anidride carbonica ($CO_2$) che emette ad una lunghezza d'onda di 10.600 nm nel lontano infrarosso e che non è trasmissibile su fibra ottica. Le radiazioni laser emesse nell'ambito del visibile e nel vicino infrarosso possono essere trasmesse su fibra ottica e quindi vengono usate nei sistemi fibroscopici. Le più utilizzate di queste radiazioni sono quelle emesse da laser ad argon (Ar) e a neodymium-yttrium, aluminium, garnet (Nd:YAG). La radiazione dell'argon ha una lunghezza d'onda di 488-514 nm, quella del Nd:YAG di 1060 nm. Tali radiazioni hanno caratteristiche di assorbimento tessutale differenti strettamente correlabili con la lunghezza d'onda (Dumon, 1985).

Il laser Nd:YAG viene preferito nella disostruzione di tratti ostruiti dell'apparato respiratorio; i risultati sono positivi in rapporto al fatto che la distruzione di piccole masse di tessuto localizzate in trachea o in un grosso bronco permette risultati estremamente favorevoli ricanalizzando e quindi riventilando aree già funzionalmente escluse, con spettacolari miglioramenti nella sintomatologia.

Per trattamenti di tumori tracheobronchiali si possono usare sia endoscopi rigidi che flessibili. Gli endoscopi rigidi sono stati i primi ad essere usati, quando si disponeva soltanto del laser a $CO_2$, ma hanno mantenuto indicazioni presso alcuni gruppi di endoscopisti che hanno una grande manualità per questi strumenti, mentre altri gruppi usano soltanto sistemi fibroscopici.

I vantaggi di lavorare con strumenti flessibili sono numerosi. Essi vanno da una estrema maneggevolezza, ad una maggiore semplicità operativa, ad una minore traumaticità per il paziente. Inoltre possono essere usati in tutti i pazienti purché non siano in stato preagonico. Non vanno considerate limitazioni per la fibroscopia le deviazioni della colonna vertebrale, le riduzioni di apertura dell'articolazione temporo-mandibolare o l'intolleranza a manovre così traumatiche come l'introduzione dei tubi rigidi. E ancora la possibilità di lavorare con uno strumento flessibile consente di raggiungere e trattare anche aree situate in zone non accessibili per uno strumento rigido.

Lo strumento flessibile consente di lavorare in anestesia locale e con una modesta sedazione del paziente limitando drasticamente i problemi di ospedalizzazione e di reperimento di anestesisti: in questa maniera i costi globali dell'intervento vengono ad essere notevolmente ridotti.

**Indicazioni**

Le indicazioni alla laserterapia endoscopica possono essere divise in gruppi. Del primo fanno parte quelle lesioni che provocano situazioni acute di ostruzione o di sanguinamento e nelle quali si interviene con la laserterapia allo scopo di porre un rimedio rapido ed efficace che ripristini la ventilazione e interrompa il sanguinamento e che preluda ad un inquadramento clinico accurato del caso e a provvedimenti terapeutici più stabili.

Del secondo gruppo fanno parte lesioni, di tipo *early*, di trachea (fig. 45), carena o grossi bronchi in pazienti ad alto rischio chirurgico.

Il terzo gruppo di indicazioni comprende la palliazione delle formazioni ostruenti la trachea e i grossi bronchi, ad andamento cronico e progressivo. In questi casi la disostruzione può essere ottenuta a patto che il parenchima distale all'area ostruita sia funzionante. Una limitazione a quest'ultimo gruppo di indicazioni è quella di tumori che inte-





Digitized by Google

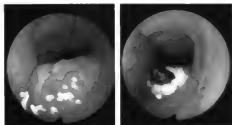



Fig. 45. *A sinistra*: neoplasia della parete postero-laterale sinistra della trachea. *A destra*: dopo laserterapia la lesione appare completamente coagulata e necrotica. (*Osservazione Spinelli*).

ressano numerose cartilagini tracheali contigue. Nel caso che più di 2 o 3 anelli cartilaginei siano interessati dal tumore, il tumore stesso va trattato con estrema prudenza, perché esso costituisce l'impalcatura di sostegno della trachea. Una eccessiva distruzione di tessuto tumorale potrà provocare un collasso del tubo tracheale e determinare un grave ostacolo ventilatorio.

Un'altra condizione limitativa è legata alla presenza di lesioni ostruttive in limitato equilibrio ventilatorio per la riduzione del calibro tracheale: il dover introdurre uno strumento che contribuisce a restringere il lume può determinare problemi di ipossia e di ipercapnia. In questi casi l'uso dello strumento rigido, quando possibile, è di aiuto a mantenere una ventilazione corretta, ma non bisogna dimenticare che la possibilità di usare endoscopi flessibili a due canali permette di spingere un sondino da *jet ventilation* distalmente all'area stenotica che permetterà di ossigenare il parenchima mentre si tratterà l'area ostruita.

Importante, dal punto di vista dell'indicazione al trattamento delle neoplasie tracheo-bronchiali, è il loro aspetto endoscopico. Tumori di tipo infiltrante si prestano poco al trattamento endoscopico, mentre vi si prestano molto bene le forme vegetanti all'interno del lume.

**Tecnica**

La tecnica operatoria laser-endoscopica delle lesioni ostruttive delle vie aeree prevede: il posizionamento del paziente semisdraiato su un fianco, possibilmente sul fianco malato, in modesto Trendelenburg; l'introduzione in anestesia locale del fibroscopio attraverso il naso, se il fibroscopio viene introdotto nudo, oppure attraverso la bocca, se esso viene introdotto incamiciato da un tubo oro-tracheale; l'inquadramento della lesione e il posizionamento del fibroscopio in posizione ottimale rispetto alla lesione stessa; l'irraggiamento iniziando dalla posizione declive in maniera che un eventuale scolo di sangue non ostacoli la visione e quindi la prosecuzione dell'irraggiamento. In questa posizione, comunque, il sangue non andrà verso il parenchima, ma tenderà a scolare verso la bocca.

Vi sono inoltre alcune precauzioni che vanno prese durante il trattamento, quali il mantenimento di una distanza di sicurezza tra la fibra e la lesione per evitare collisioni durante accessi di tosse o atti respiratori più profondi che possono avvicinare improvvisamente la lesione all'apice dell'endoscopio e quindi alla estremità della fibra laser-vettrice. Questa deve essere mantenuta pulita durante l'irraggiamento sia da detriti di sangue o di secrezioni bronchiali sia dal fumo. È quindi opportuno, se possibile, che la fibra venga usata con un flusso coassiale di gas inerte.

Tutte le condizioni che opacizzano l'estremità della fibra comportano un assorbimento locale di calore: se esso si protrae e la temperatura locale raggiunge valori elevati la fibra può andare incontro a fusione, con modificazione delle caratteristiche di distribuzione spaziale del fascio in uscita.

**Risultati**

Nella nostra esperienza, in tutti i pazienti sottoposti a fotocoagulazione per neoplasie endotracheali, il trattamento ha avuto successo, con rapido aumento del lume tracheale e miglioramento immediato della dispnea. In questo gruppo di pazienti non sono state osservate complicanze.

Tra i pazienti con vegetazioni localizzate nei bronchi principali è stato ottenuto un soddisfacente miglioramento delle condizioni di ventilazione e di quelle generali nel 77% dei casi. Nel gruppo di pazienti con occlusione di un bronco lobare, la fotocoagulazione laser ha conseguito la ripermeabilizzazione del tratto occluso e la riventilazione del lobo corrispondente nel 50%.

Complessivamente ci sembra di poter riassumere alcune delle indicazioni al trattamento con Nd:YAG laser in broncoscopia: esse spaziano dalla coagulazione di lesioni sanguinanti alla ablazione di masse a sviluppo endoluminale. Per queste ultime il trattamento laser è indicato quando le lesioni originano dalla mucosa, mentre costituiscono una controindicazione al trattamento le lesioni estrinseche al lume bronchiale salvo nei casi in cui queste, superata la parete per processi infiltrativi, vegetino nell'albero respiratorio come può accadere ad es. per i tumori della tiroide. La maggior parte delle indicazioni alla fotocoagulazione con Nd:YAG laser in broncologia riguardano, al momento, la disostruzione di tratti respiratori ostruiti per tumori maligni inoperabili. Infatti, quando il trattamento chirurgico della neoplasia non sia possibile per motivi di ordine locale (avanzata estensione del tumore con infiltrazione di strutture adiacenti) o generale (scadute condizioni cardiorespiratorie), la disostruzione dell'albero tracheobronchiale può essere eseguita per via broncoscopica ottenendo una migliore ventilazione polmonare e un corrispondente miglioramento della dispnea e delle condizioni generali del paziente.

Una considerazione a parte va fatta per le forme *early* centrali che rappresentano una esigua minoranza dei tumori polmonari alla diagnosi e nelle quali la exeresi può apparire come un trattamento fin troppo aggressivo. Al momento, tuttavia, in mancanza di studi prospettici sui risultati delle due metodiche (laser-endoscopica e chirurgica tradizionale), ogni considerazione sulle possibili modalità di trattamento dei tumori *early* resta teorica anche per l'impossibilità di stabilire preoperatoriamente la esatta profondità di infiltrazione della lesione e il trattamento endoscopico può essere riservato soltanto a pazienti con condizioni di rischio chirurgico inaccettabile.

Le vegetazioni endobronchiali di natura benigna che possono essere trattate per via broncoscopica con Nd:YAG laser sono le granulazioni che si sviluppano nei pazienti tracheostomizzati e portatori di cannula tracheale permanente, come i granulomi da corpo estraneo endobronchiale.

Per quanto riguarda infine le lesioni vascolari, la fotocoagulazione laser offre il reale vantaggio, rispetto alla elettrocoagulazione, di essere effettuata senza che si determini il contatto con la lesione, evitando così il possibile sanguinamento che può insorgere al momento del distacco dell'elettrodo coagulatore dalla lesione.

I limiti della fotocoagulazione laser sono legati principalmente alla difficoltà di fronteggiare opportunamente la lesione. Nei rami bronchiali periferici non è sempre possibile




Digitized by Google

infatti porsi con l'endoscopio davanti al bersaglio in modo che la radiazione incida perpendicolarmente su di esso.

Gli insuccessi possono derivare da una incompleta esposizione della lesione: residui di malattia in «zone d'ombra», cioè dietro speroni bronchiali o dietro strette curvature, determinano la sicura e precoce recidiva della lesione.

Recentemente (Wakabayashi *et al.*, 1991) il laser a $CO_2$ è stato impiegato con un certo successo nel trattamento di *lesioni bollose del polmone*. L'ablazione avviene per via toracoscopica.

**Bibliografia**

Dumon J. F., *YAG Laser Bronchoscopy. Surgical Science Series*, Vol. 5, 1985, Praeger, New York.
Goldman L., *The Biomedical Laser: Technology and Clinical Applications*, Springer, New York, Heidelberg, Berlin, 1981.
Personne C. *et al.*, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 1986, **91**, 710.
Spinelli P., *Laser in Endoscopy*, in Angelini L. *et al.* eds., *Emerging Technologies in Surgery*, 1984, Masson, Milano.
Spinelli P., Pizzetti P., Dal Fante M., Marchesini R., Massetti R.: *Fotocoagulazione endoscopica: albero tracheo-bronchiale*, in Pratesi R., Pardini C. eds., *Laser di potenza. Applicazioni mediche*, 1989, Monografie Scientifiche C. N. R., Roma, 167-172.
Wakabayashi A. *et al.*, *Lancet*, 1991, **337**, 881.

PASQUALE SPINELLI

## APPLICAZIONI DEL LASER NELLA PATOLOGIA DELL'APPARATO GASTROINTESTINALE

### Introduzione

Nello studio e nel trattamento delle malattie del tratto gastrointestinale il laser trova applicazioni sempre più ampie, particolarmente per quello che riguarda le applicazioni endoscopiche. La tecnologia laser, infatti, ha messo a disposizione del medico una grande quantità di energia, utilizzabile in un regime di massima sicurezza per il paziente e indirizzabile con estrema precisione sul bersaglio designato. Dopo i primi studi dedicati all'impiego del laser a $CO_2$, utilizzabile solo con endoscopi rigidi e quindi di uso estremamente limitato, sono stati utilizzati i laser ad argon e a Nd:YAG; questi ultimi due, che hanno una radiazione di lunghezza d'onda trasmissibile su fibra ottica, sono usati per raggiungere tutte quelle aree che possono essere visualizzate con strumenti flessibili.

### Indicazioni

Il laser ad argon, nel corso dei primi trattamenti endoscopici di sorgenti di emorragia, si è caratterizzato per la selettività della sua radiazione nei confronti dell'emoglobina e quindi delle aree tessutali ricche di sangue (angiomi, angiodisplasie) o addirittura sanguinanti. La sua limitata penetrazione ne faceva uno strumento estremamente sicuro al fine di evitare la perforazione dei visceri trattati, complicazione pressoché impossibile con questo laser.

Il laser a Nd:YAG, che è entrato più recentemente nell'armamentario terapeutico, ha dimostrato ampia applicabilità sia nel trattamento delle lesioni emorragiche che nella disostruzione di cavità ostruite da tumori; esso ha lasciato però al laser ad argon alcuni spazi ben definiti, limitati a speciali indicazioni in campo oncologico e nel trattamento di alcune lesioni potenzialmente emorragiche.

La caratteristica fisica che fa del laser a Nd:YAG quello più usato nell'apparato digerente e particolarmente nella sua patologia oncologica è il fatto che la sua radiazione sia poco assorbita dai tessuti e penetri pertanto profondamente nel tessuto stesso. Trasformandosi la radiazione in calore, per degradazione dell'energia elettromagnetica nell'impatto col tessuto, questo raggiungerà rapidamente alte temperature, con la formazione di aree di necrosi coagulativa nelle zone irraggiate. L'eliminazione del tessuto necrotico nei giorni successivi al trattamento, darà luogo alla scomparsa della massa che vegetava all'interno di una cavità quale, ad es., l'esofago, lo stomaco o l'intestino.

Una modalità più rapida per distruggere una massa è quella di vaporizzarla indirizzando la radiazione sotto il controllo della vista; la fase di vaporizzazione segue quella della fotocoagulazione e precede, nell'innalzamento della temperatura, quella della carbonizzazione; quando sulla superficie del tessuto irradiato si forma uno strato di carbonizzazione è necessario interrompere il trattamento, perché il tessuto carbonizzato assorbe la radiazione laser e ne impedisce la penetrazione e quindi la successiva azione necrotizzante.

Nell'apparato gastrointestinale il laser a Nd:YAG può essere usato irradiando il tessuto da una distanza minima di 1 cm o ponendo la fibra ottica laser-vettrice a diretto contatto col tessuto; quest'ultima modalità permette di evitare che una parte dell'energia, colpito il tessuto, si rifletta, disperdendosi; è così che con la modalità di irraggiamento in contatto diretto tra la fibra e il tessuto si possono usare quantità di energia molto più basse di quelle che bisogna erogare nei trattamenti a distanza; ciò comporta la possibilità di usare, per i trattamenti a contatto, per i quali è richiesta una minore quantità di energia e che vengono condotti usando potenze più basse, sorgenti laser notevolmente meno costose di quelle che vengono usate per i trattamenti a distanza.

I primi trattamenti laser nell'apparato gastrointestinale sono stati eseguiti a livello del retto in portatori di tumori (fig. 46); il retto presenta, ad es., in confronto all'esofago, il vantaggio di non risentire dei movimenti respiratori o delle pulsazioni cardiache e si è quindi prestato bene per le prime esperienze; queste, dimostrando che il laser era altamente efficace, hanno aperto la strada alla laserterapia, in particolare a quella endoscopica. Oggi essa è riconosciuta in tutto il mondo come una efficace forma di palliazione dei tumori e, in casi selezionati, anche di cura radicale. Il trattamento laser delle emorragie, che era stato la prima indicazione dei laser, ha perso notevolmente terreno perché sono stati introdotti nuovi mezzi terapeutici quali l'iniezione endoscopica nel punto sanguinante di sostanze vasocostrittici, come l'adrenalina, o di agenti sclerosanti come il polidocanolo o l'alcol etilico, che risultano più maneggevoli e meno costosi.

La laserterapia resta invece il cardine del trattamento di palliazione endoscopica dei tumori gastrointestinali (fig. 47). Anche se le indicazioni precise per questi trattamenti non sono mai state codificate, la laserterapia trova oggi indicazione complementare sia nelle recidive della chirur-

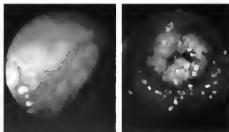



Fig. 46. *A sinistra*: neoplasia vegetante del retto che determina ostruzione completa del lume. *A destra*: dopo fotocoagulazione laser si osserva ricanalizzazione del viscere, con notevole riduzione delle dimensioni della lesione. (*Osservazione Spinelli*).

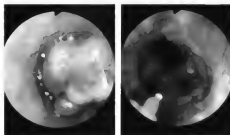



Fig. 47. *A sinistra*: carcinoma vegetante del cardias che occupa l'intero lume esofageo. *A destra*: al termine del trattamento con laser Nd:YAG fotodistruzione completa della lesione con ripristino della canalizzazione. (*Osservazione Spinelli*).

gia, della radio- e della chemioterapia sia di molti altri metodi di terapia endoscopica. Ciò vale principalmente per la palliazione del carcinoma esofageo, che si è rivelato il campo di principale applicazione per la laserterapia endoscopica, in quanto essa permette una immediata scomparsa della disfagia. In questo campo la terapia endoscopica si avvantaggia della possibilità offerta dal laser di essere intensamente focalizzato su un determinato bersaglio, con liberazione di alte quantità di energia.

La selezione dei pazienti per il trattamento laserterapico deve avvalersi di una precisa conoscenza della lesione: questa si ottiene generalmente attraverso l'esecuzione di un esame radiologico contrastografico, della tomografia computerizzata e, come esame conclusivo, della valutazione endoscopica diretta e di quella ecoendoscopica.

**Tecnica**

La tecnica di trattamento si avvale come schema generale di alcune modalità alternative: la via anterograda o quella retrograda (per quanto riguarda il punto di inizio del trattamento); la posizione in contatto o a distanza della guida d'onda (fibra ottica) col tessuto da irraggiare; il regime di potenza, alto o basso, del laser durante l'irraggiamento.

Questi parametri, essendo comuni a tutti i trattamenti eseguiti a livello digestivo, meritano qualche nota di chiarimento: riguardo al punto di inizio del trattamento, la via anterograda comporta la progressione dello strumento man mano che il lume si ricanalizza, mentre la via retrograda prevede come primo atto la dilatazione e quindi inizia il trattamento dalla parte della neoplasia che è più distante rispetto all'operatore, con il rischio che la dilatazione abbia fatto sanguinare l'area tumorale, determinando l'assorbimento del laser sugli strati più superficiali della lesione; della posizione della fibra ottica rispetto alla lesione e della modalità di trattamento ad alte o basse potenze è stato già detto.

Per eseguire una laserterapia endoscopica è necessaria una idonea strumentazione consistente in una sorgente laser capace di generare 60-100 W di potenza, connessa ad una fibra ottica che trasporti il fascio dalla sorgente alla lesione, lungo il canale operativo di un endoscopio; quest'ultimo può essere del tipo tradizionale o della nuova generazione degli endoscopi elettronici, che hanno nei riguardi del laser il vantaggio di non richiedere l'uso di lenti protettive perché non c'è più visualizzazione diretta del fascio, né vi è aspirazione di fumi dal momento che l'operatore lavora a distanza dallo strumento.

Accanto alla strumentazione è necessario precisare che per eseguire trattamenti laser è consigliabile costituire un gruppo operativo formato da un infermiere particolarmente addestrato sulla materia, da un tecnico laser e, ovviamente, dall'operatore. L'introduzione di questo nuovo concetto di lavoro di gruppo sta dando importanti risultati nel campo della prevenzione delle complicanze e della sicurezza operativa nei riguardi del paziente e del personale sanitario.

Il trattamento, che richiedeva alcuni anni or sono diverse sedute prima di riaprire il lume di un viscere, fosse esso l'esofago o l'intestino, può esser concluso oggi in una sola seduta; se ne occorre più di una, si intervalla di 48-72 ore. Generalmente, dopo aver ottenuto la disostruzione di un viscere, si fissa la successiva seduta al momento della ricomparsa dei primi sintomi di ostruzione. La lunghezza dell'intervallo libero dipende da molti fattori, tra cui l'evolutività del tumore, la lunghezza del tratto interessato, la sede della stenosi.

**Risultati**

I risultati dimostrano come il laser riesca a ricanalizzare tratti del tubo digestivo ostruiti da tumore nell'80-90% dei casi in cui esista indicazione al trattamento. Generalmente la durata della palliazione e dell'intervallo libero è maggiore per il carcinoma esofageo che per quello colico e rettale, in cui il contenuto fecale può esser causa di impatto.

Le esperienze cliniche riportate in letteratura danno alte percentuali di ricanalizzazione: queste superano il 90% dei casi in cui l'indicazione sia stata posta correttamente; differiscono nel tratto esofageo e in quello intestinale perché nel primo, per il sovrapporsi di fenomeni infiammatori o di estensione tumorale, nel 10-15% dei casi non si ottiene un risultato funzionale soddisfacente, che è invece la regola dopo ricanalizzazione dell'intestino.

Le complicanze dei trattamenti laser nell'apparato gastrointestinale si possono sintetizzare in perforazioni (con possibile formazione di fistole) ed emorragie; la mortalità dopo questi trattamenti si aggira intorno all'1%, mentre la morbilità è intorno al 3%, come emerge dai dati della letteratura e dalla nostra stessa esperienza. Data la sicurezza di questi trattamenti, la loro facile esecuzione, lo scarso trauma che essi comportano per il paziente, che li sopporta senza dover ricorrere all'anestesia generale, essi rappresentano al momento la palliazione ideale per le neoplasie ostruttive dell'apparato gastrointestinale.

**Impiego del laser nella litotrissia**

Recentemente i laser hanno trovato una nuova possibilità applicativa nella litotrissia, che permette di frantumare calcoli delle vie urinarie e delle vie biliari. I metodi per ottenere la frantumazione dei calcoli nella loro sede di origine e la loro eliminazione in frammenti sono numerosi e comprendono la litotrissia extracorporea a onde d'urto (v. *), che opera senza il contatto diretto col paziente, la litotrissia elettroidraulica, quella ultrasonica e quella laser, che agiscono mediante contatto diretto col calcolo e presuppongono pertanto manovre endoscopiche e talora chirurgiche.

Il pioniere della *laserlitotrissia* è stato Mulvaney, che già nel 1968 usò un laser a rubino con lunghezza d'onda di 694 nm per frammentare dei calcoli *in vitro*; il problema che si pose anche a chi successivamente si occupò di litotrissia fu di separare l'effetto di rottura dal danno che esso poteva produrre sui tessuti dell'organo in cui il calcolo era ospitato, che erano particolarmente danneggiati dal calore liberato dall'emissione laser. Studi successivi riuscirono a mettere a punto una tecnica che concentrava potenze altis-





Digitized by Google

sime in tempi di qualche nsec: questo tipo di irradiazione produceva emissioni di calore trascurabili, mentre generava un'onda d'urto estremamente violenta, che frantumava il calcolo senza danneggiare i tessuti circostanti.

I principi su cui si basa la frammentazione dei calcoli mediante laser possono essere riassunti in 4 punti: 1) è necessario che l'onda d'urto abbia la forza necessaria a superare le forze di coesione del calcolo; 2) l'emissione laser non deve essere in continua in quanto crea troppa dispersione di calore che danneggerebbe i tessuti biologici; 3) la forza delle onde d'urto è direttamente proporzionale alla brevità degli impulsi; 4) l'effettiva possibilità di applicazione clinica dipende dalla possibilità di inviare questi impulsi su fibra ottica.

Le prime esperienze cliniche si servirono di laser a coloranti accordabili: questi dimostrarono che il laser poteva rompere i calcoli in frammenti di qualche mm e che non danneggiava i tessuti; in caso di perforazione il laser produceva fori da 250 μm, irrilevanti sul piano clinico. Le applicazioni cliniche che sono seguite hanno portato all'uso dei laser nella litotrissia endoscopica: sono state così raggiunte varie sedi; fatto tesoro delle esperienze della litotrissia urinaria, sono stati trattati calcoli sia nelle vie biliari che nella colecisti; le vie di accesso per le vie biliari sono state quella transduodenoscopica, principalmente, e in qualche caso quella percutanea transepatica; per la colecisti la via transparietale.

I calcoli biliari si comportano differentemente a seconda della composizione: quelli di pigmento sono molto più fragili di quelli di colesterolo; il laser Nd:YAG, efficace per i primi, lo è molto meno per i secondi.

Recentemente sono stati usati laser a eccimeri, che irraggiano lunghezze d'onda di 308 nm e che si sono rivelati utili nella cheratotomia, nell'angioplastica e in chirurgia ossea e vertebrale: gli esperimenti hanno dimostrato che anche questi laser, come d'altronde i laser ad alessandrite (che irraggiano a 730-780 nm con emissione di picco a 755) sono di grande interesse; questi ultimi laser infatti sembrano essere i più sicuri tra quanti fino a oggi sperimentati perché riescono a ottenere frammenti molto piccoli dei calcoli, anche adoperando basse quantità di energia; essi hanno inoltre un bassissimo assorbimento da parte dell'acqua e dell'emoglobina. La frammentazione dei calcoli consegue alla formazione di plasma che si verifica sulla superficie del calcolo stesso all'impatto dell'impulso laser.

**Bibliografia**

Fleisher D., Jensen D., Bright-Asare P., *Therapeutic Laser Endoscopy in Gastrointestinal Disease*, 1983, Nijhoff, Boston.
Kiefhaber P., Kiefhaber K., Huber F., *Endoscopy*, 1986, **18**, Suppl. 1, 44
Spinelli P., *Atti Soc. Ital. Chir.*, 1983, Masson, Milano, 39-46.
Spinelli P., Dal Fante M., *Giorn. Ital. End. Dig.*, 1986, **9**, 53-61.
Steiner R., *Laser Lithotripsy. Clinical Use and Technical Aspects*, 1988, Springer, Berlin.

PAQUALE SPINELLI

## LASERTERMIA

**Premessa sulla radioterapia in ipertermia**

Circa 80 anni fa un medico tedesco, C. Muller, utilizzò l'ipertermia con lo scopo di aumentare la risposta terapeutica alla radioterapia. Nonostante i risultati indicassero un miglioramento dell'efficacia terapeutica con questa terapia combinata, fu solo negli anni '70 che l'interesse scientifico si focalizzò sullo studio del meccanismo d'azione e venne esplorata in differenti situazioni cliniche la potenziale utilità dell'ipertermia nei trattamenti radiologici, portando allo sviluppo di tecnologie sempre più perfezionate. Attualmente, i risultati clinici indicano nell'ipertermia un valido trattamento adiuvante della radioterapia nel controllo locale delle neoplasie. L'efficacia terapeutica del trattamento combinato dipende da numerosi fattori quali il valore di temperatura ed il tempo di riscaldamento, l'intervallo e la sequenza tra le due modalità, il frazionamento delle applicazioni e dalle caratteristiche stesse del tumore (volume, sede, tipo istologico).

Una valutazione dettagliata del ruolo dell'ipertermia nelle applicazioni cliniche e le basi del meccanismo d'azione sono state recentemente riportate da Overgaard (1989) e da Dewey (1989). I tumori che normalmente sono i più idonei ad essere trattati e meglio rispondono alla terapia sono quelli superficiali della mammella, del collo e il melanoma. Fino ad ora, cioè, la valutazione clinica è limitata a casi di tumori superficiali o comunque a quei casi in cui è possibile un riscaldamento per mezzo di sonde interstiziali.

L'indicazione per il trattamento ipertermico è duplice. In un caso l'ipertermia riveste un ruolo importante nel trattamento palliativo, specialmente nel caso di recidiva in sedi già trattate con radiazioni. Questa è la situazione in cui più comunemente si propone l'impiego dell'ipertermia. Nel secondo caso, l'ipertermia può essere usata quale trattamento primario di tumori avanzati ove si ritenga che un controllo locale porti ad una migliore probabilità di curabilità e sopravvivenza. In entrambe le situazioni, una delle maggiori limitazioni cliniche è quella dell'impossibilità di riscaldare omogeneamente e sufficientemente il tumore, specie se questo è posto in sedi profonde. Il futuro della ipertermia nella terapia oncologica è quindi strettamente legato al miglioramento delle tecniche di riscaldamento.

Differenti tecniche sono utilizzate per il riscaldamento di tessuti biologici quali la perfusione con sangue riscaldato, l'impiego di correnti elettriche ad alta frequenza, ultrasuoni e radiazione elettromagnetica nelle regioni delle radiofrequenze e delle microonde. Per ognuna di queste metodiche, il raggiungimento e la distribuzione locale di una prefissata temperatura dipendono dalle proprietà termiche del tessuto, dallo scambio di calore con l'ambiente esterno e dallo scambio di calore determinato dal flusso sanguigno.

**Lasertermia**

L'impiego della radiazione laser per indurre ipertermia è stato introdotto recentemente e si sta valutando la sua potenzialità ed efficacia. La lunghezza d'onda della sorgente laser è il parametro che principalmente influenza il meccanismo di interazione poiché è l'assorbimento di energia da parte dei cromofori tessutali che determina l'effetto di riscaldamento (Svaasand *et al.*, 1985). Attualmente, è utilizzata la lunghezza d'onda di 1064 nm emessa dal laser Nd:YAG, una radiazione che non essendo fortemente assorbita né dall'emoglobina né dal contenuto di acqua del tessuto può penetrare per diversi millimetri, da 3 a 8, dipendentemente dalla struttura biologica irraggiata e offre quindi la possibilità di trattare tumori relativamente spessi.

L'irraggiamento può essere effettuato veicolando la radiazione laser in fibre ottiche di quarzo e illuminando il tumore esternamente, posizionando la parte terminale della fibra ad una opportuna distanza dalla superficie da trattare, o inserendo direttamente nella massa tumorale la parte terminale della fibra. In quest'ultimo caso possono essere accoppiate alla fibra opportune guide di luce (zaffiri sintetici) di forma conica, tali da diffondere la radiazione entro angoli solidi maggiori. Le potenze emesse dalla sonda ottica sono normalmente contenute entro qualche watt, il che permetterebbe di mettere a punto una strumentazione laser più compatta e maneggevole di quella attualmente impiegata.





Digitized by Google

Restano tuttavia da chiarire numerosi aspetti sia teorici che metodologici nell'impiego della lasertermia. Non essendo infatti ancora sufficientemente sviluppati i modelli matematici che descrivono il trasferimento dell'energia ottica e la conduzione termica in tessuti biologici, che sono caratterizzati da una elevata anisotropia nel fenomeno della diffusione ottica, restano da definire quali sono le reali dimensioni dei volumi tessutali trattabili (Davis *et al.*, 1989). Attualmente, le valutazioni si basano sulla determinazione, mediante sensori termici, della distribuzione della temperatura, distribuzione che è funzione della geometria di irraggiamento utilizzata. Ad es. in tumori sperimentali murini si possono ottenere temperature di 44-46 °C, ad una profondità di circa 3 mm, utilizzando una irradianza superficiale di circa 200 mW/cm². A queste temperature e con tempi di trattamento di 45 min si è avuta una risposta completa nel 75% dei casi per tumori di 7-9 mm di diametro e spessore di 3 mm (Waldow *et al.*, 1987). Valutazioni sperimentali della distribuzione di temperatura nello stomaco e nella milza hanno indicato che con un trattamento interstiziale, posizionando la sonda ottica a 3 mm di profondità, è possibile ottenere una temperatura di 42 °C, controllata e stabile, entro almeno 6 mm dal punto di infissione (Daikuzono *et al.*, 1988).

I risultati sperimentali ottenuti con la lasertermia, oltre a indicare la possibilità metodologica del trattamento, potrebbero giustificare la sua applicazione in combinazione con altri approcci terapeutici. Della combinazione ipertermia-radioterapia si è già detto (v. anche: RADIOTERAPIA, XIII, 34).

La possibilità di trattare ipertermicamente piccoli tumori, in sedi non facilmente accessibili alle sonde convenzionali ipertermiche a radiofrequenza, potrebbe introdurre nuove applicazioni di impiego. Inoltre, la possibilità di veicolare la radiazione laser in fibre ottiche, con una perdita di potenza modesta per lunghezze di parecchie decine di metri, permetterebbe di trattare il tumore simultaneamente con le radiazioni ionizzanti, esaltando quindi l'effetto sinergico di questa terapia combinata.

**Fotochemioterapia o terapia fotodinamica (PDT)**

Un'altra terapia in cui gli effetti sono potenziati dalla combinazione col trattamento ipertermico è la fotochemioterapia, più comunemente citata come terapia fotodinamica (PDT). È stato dimostrato che il riscaldamento del tumore, per mezzo di microonde, effettuato in concomitanza con la PDT o immediatamente dopo di essa, potenzia la risposta terapeutica suggerendo così un effetto più che additivo sull'efficacia derivante dai singoli trattamenti (Svaasand, 1985; Waldow *et al.*, 1987). La radiazione del laser Nd:YAG, o di laser emittenti nella banda del vicino infrarosso (ad es. 800 nm), è ben adatta ad essere utilizzata quale componente di un trattamento ipertermico poiché la profondità di penetrazione nel tessuto è sufficientemente elevata da determinare una distribuzione della temperatura sufficientemente omogenea. Inoltre, la radiazione infrarossa può essere inviata simultaneamente a quella usata, normalmente nella banda del rosso (630 nm), nella PDT utilizzando una unica fibra ottica nella quale possono essere veicolati i fasci provenienti dalle diverse sorgenti laser impiegate. In questo modo si avrebbe il massimo effetto sinergico PDT-ipertermia. Sebbene l'ipertermia effettuata con il laser a Nd:YAG non riesca a controllare tumori voluminosi, la possibilità di modalità combinate con la PDT potrebbe tuttavia aprire nuove possibilità terapeutiche.

V. anche: *aspetti molecolari e cellulari dell'azione fotodinamica* (col. 4333); *fotochemioterapia endoscopica dei tumori* (col. 4363).

**Conclusioni**

Al momento attuale, le poche informazioni disponibili sulle applicazioni sperimentali e cliniche della lasertermia non permettono ancora di definire con precisione il suo ruolo quale approccio terapeutico nel trattamento delle patologie maligne. Pur potendo essere considerata una nuova modalità nel trattamento del cancro, sia usata come terapia a sé stante che come adiuvante della chemioterapia o della radioterapia o della terapia fotodinamica, devono ancora essere affrontati ulteriori studi per valutare il suo effetto su quei tessuti normali e tumorali (fegato, pancreas, colon, polmone, vescica, prostata) che, per localizzazione anatomica, potrebbero essere i bersagli «ideali» di una radiazione trasmessa da fibre ottiche. Restano, inoltre, ancora da definire i parametri e le tecniche (modalità di irraggiamento) per il raggiungimento dell'effetto terapeutico ottimale.

Anche se effetti collaterali della lasertermia sono apparentemente assenti, o quanto meno inferiori a quelli derivanti dal trattamento ipertermico di grosse masse tessutali per le quali vengono utilizzati campi di radiofrequenza, deve essere attentamente valutata la possibilità di indurre embolie gassose specie nel caso di trattamento interstiziale. Infatti, per evitare il sovrariscaldamento della parte terminale del componente ottico può essere impiegato un flusso coassiale di acqua o di gas. In quest'ultimo caso si può indurre un'embolia gassosa potenzialmente fatale, inconveniente che può comunque verificarsi anche in seguito ad altri tipi di intervento chirurgico (Schroeder *et al.*, 1989).

**Bibliografia**

Daikuzono N., Suzuki S. *et al.*, *Lasers Surg. Med.*, 1988, **8**, 254.
Davis M., Dowden J. *et al.*, *Lasers Med. Sci.*, 1989, **4**, 41.
Dewey W. C., *Radiat. Res.*, 1989, **120**, 191.
Overgaard J., *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1989, **16**, 535.
Schroeder T. M., Poulekkainem P. A. *et al.*, *Lasers Surg. Med.*, 1989, **9**, 183.
Svaasand L. O., *Med. Phys.*, 1985, **12**, 455.
Svaasand L. O., Boerslid T. *et al.*, *Lasers Surg. Med.*, 1985, **5**, 589.
Waldow S. M., Henderson B. W. *et al.*, *Lasers Surg. Med.*, 1987, **7**, 12.

RENATO MARCHESINI

## LASER IN CHIRURGIA GENERALE

**Introduzione e applicazione clinica**

Come per altre discipline della medicina anche in chirurgia l'avvento di nuove tecnologie ha comportato lo sviluppo e l'affinamento di tecniche volte a facilitare il compito del chirurgo e a migliorare i risultati conseguiti. La possibilità di utilizzare la radiazione laser ha comportato quindi una serie di ricerche tese ad identificare i campi di applicazione più utili di tale forma di energia; la possibilità di concentrare alte densità di energia in un punto molto piccolo ottenendo quindi temperature molto elevate ha permesso di usare la radiazione laser come un bisturi poiché l'effetto di esplosione e vaporizzazione cellulare consente una dieresi veloce dei tessuti irradiati (Rubino *et al.*, 1983).

La prima applicazione laser in chirurgia è stata effettuata con i laser di potenza, capaci di erogare alte densità di energia, e il più impiegato è stato il laser a $CO_2$.

I vantaggi presunti del laser a $CO_2$ erano:
— buona capacità di taglio con limitato danno ai tessuti circostanti;
— possibilità di coagulare, contemporaneamente al taglio, vasi di piccolo calibro, inferiore cioè ai 2 mm di diametro;
— capacità di sigillare i vasi linfatici riducendo, in chirurgia oncologica, la disseminazione di cellule neoplastiche;




Digitized by Google

— mancanza di contatto del manipolo, che conduce la radiazione laser, con la superficie operatoria e quindi diminuzione del rischio di trasferimento di materiale infetto o di cellule neoplastiche sul tessuto sano;
— possibilità di utilizzare il laser in corso di interventi chirurgici in cui sia necessario registrare in continuazione dei potenziali bioelettrici;
— diminuzione del dolore postoperatorio;
— buona guarigione delle ferite.

Dopo una intensa fase di applicazione sperimentale (Memeo *et al.*, 1980), si è passati, anche e soprattutto presso il nostro Istituto, alla applicazione clinica del laser. Sono stati eseguiti numerosi interventi come:
— mastectomie radicali;
— interventi di amputazione del retto per via addomino-perineale;
— asportazione di numerose formazioni cutanee;
— resezioni del fegato;
— resezioni del pancreas;
— resezioni polari del rene.

**Valutazione sull'impiego del laser in chirurgia**

Dopo una tale ampia utilizzazione clinica alla luce della esperienza maturata possiamo affermare che l'applicazione del laser a $CO_2$ in chirurgia generale è stata abbastanza deludente (Rubino *et al.*, 1989).

Per quanto riguarda la capacità di taglio, il laser offre all'operatore un'incisione soddisfacente con un limitato danno tessutale; lo spessore del tessuto necrotico è inferiore a quello del bisturi elettrico ma ciò non migliora di molto la rapidità di guarigione delle ferite. La velocità di taglio è bassa in tessuti poveri di acqua o in tessuti ricoperti di un sottile film liquido; la mancanza di contatto sconsiglia l'utilizzo del laser in dissezioni fini poiché il taglio diventa impreciso e si può correre il rischio di ledere strutture importanti. Un certo vantaggio lo si può ottenere nella exeresi di tessuti irradiati che offrono notevole resistenza al taglio e nei quali si osserva spesso un cospicuo sanguinamento a nappo; lo stesso dicasi per gli interventi nei soggetti emofilici o con altre turbe della coagulazione.

Una valutazione obiettiva delle capacità emostatiche non è possibile per il gran numero di variabili relative al tipo di intervento, alla patologia di base e alle caratteristiche biologiche del paziente; il laser a $CO_2$ è in grado di sigillare vasi di calibro inferiore ai 2 mm e bisogna defocalizzare il raggio per ottenere un effetto emostatico ottimale; si intuisce come tale capacità emostatica sia insufficiente nella chirurgia resettiva di organi parenchimatosi, quali il fegato o il rene, in cui la emostasi deve essere eseguita con tecniche tradizionali. In chirurgia minore, infine, la perdita ematica è talmente esigua da non giustificare l'uso del laser.

Per quanto attiene la capacità di sigillare i vasi linfatici, anche se ciò avviene, il problema biologico della diffusione metastatica dei tumori deve essere inquadrato in una valutazione ben più ampia della malattia neoplastica in cui i fattori di diffusione locale sembrano avere una importanza minore che nel passato. L'effetto quindi dell'uso del laser è limitato almeno per ora a una riduzione della linforrea che si osserva dopo interventi con ampi scollamenti e con estese linfadenectomie.

L'assenza di contatto tra il laser e i tessuti può rappresentare un vantaggio quando debbano essere incisi dei tessuti infetti ma rappresenta uno svantaggio nelle dissezioni delicate di strutture vascolari e nervose.

Il dolore postoperatorio può essere minore per il minore danno tessutale provocato dalla radiazione laser ma ciò è difficilmente valutabile in termini assoluti. Per il problema inerente la guarigione delle ferite si è osservato che il processo di cicatrizzazione avviene in tempi lunghi ed è paragonabile a quello che si ottiene dopo l'uso del bisturi elettrico con qualche vantaggio su questo per il minor spessore dello strato necrotico.

**Conclusioni**

L'uso del laser a $CO_2$ trova quindi indicazioni in chirurgia generale in casi selezionati e per tempi particolari dell'intervento.

Esistono numerosi problemi legati all'uso di un braccio articolato, alla necessità di proteggere il personale e il paziente dalla radiazione, agli elevati costi di acquisto e di manutenzione delle apparecchiature. Per ovviare ad alcuni di questi problemi e per migliorare l'efficacia del laser in chirurgia generale, e soprattutto nella chirurgia resettiva di organi parenchimatosi, recentemente è stato messo a punto da Daikuzono e Joffe (1985) un apparato che utilizza un bisturi fatto da un cristallo sintetico, uno zaffiro che consente la diffusione di una radiazione di un laser Nd:YAG, che è noto offrire notevoli capacità di coagulazione; questo nuovo tipo di laser mentre da un lato permette l'uso di una lama di tipo tradizionale nello stesso tempo consente la utilizzazione del laser per ottenere contemporaneamente l'emostasi. L'esperienza clinica è ormai notevole e i risultati sono senz'altro incoraggianti anche se non ancora definitivi (Joffe, 1989).

In conclusione possiamo dire che l'uso della radiazione laser in chirurgia necessita ancora di nuovi sviluppi, di un miglioramento dei mezzi di trasporto della radiazione sul campo operatorio, della identificazione di nuove sorgenti laser che offrano prestazioni ottimali; comunque il laser può diventare, al di là di considerazioni di tipo miracolistico, un importante ausilio per il chirurgo quando il suo utilizzo sia guidato dalla piena coscienza delle sue possibilità e dei suoi limiti.

**Bibliografia**

Daikuzono N., Joffe S. N., *Med. Instrum.*, 1985, **19**, 173-178.
Joffe S. N., *Clinical Applications of the SLT Contact Nd-YAG Laser in Hepatobiliary and Pancreatic Malignancy*, in Lygidakis N. J., Tytgat G. N. J. eds., *Hepatobiliary and Pancreatic Malignancy*, 1989, Thieme, Stuttgart, pp. 383-390.
Memeo V., Greco L., Chetta G., Tritto G., *Il Policlinico (Sez. Chirurgica)*, 1980, **87**, 1043.
Rubino M., Paccione F., Memeo V., *Principi generali dei laser, Archivio ed Atti Società Italiana di Chirurgia*, 85° Congresso, 1983, 24.
Rubino M., Memeo V., Paccione F., Greco L., *Il Laser $CO_2$ in chirurgia generale, Laser di potenza, applicazioni mediche*, Monografie scientifiche C.N.R., 1989, **75**, 80.

VINCENZO MEMEO E MARIO RUBINO

## MICROCHIRURGIA LASER

**Introduzione**

Negli ultimi anni le sorgenti laser utilizzate in chirurgia hanno subito una radicale evoluzione e un continuo perfezionamento. Il laser a $CO_2$, in particolare, ha trovato in microchirurgia una collocazione ben definita: con potenze molto basse (3-8 W) collegato a un microscopio operatorio, è stato utilizzato in maniera eccellente per taglio, dissezione e microemostasi dimostrandosi superiore al coagulatore bipolare.

Ma ciò che è più peculiare e innovativo è stata la capacità di provocare la sintesi dei tessuti: concetto, questo, opposto a quello per cui il laser a $CO_2$ è stato utilizzato fin dall'inizio, cioè la sezione. Tale incongruenza si spiega in quanto, ancora oggi, non sono ben conosciute le interazioni laser-tessuto (v. sopra col. 4323) e quanto questo rapporto possa variare a seconda del tipo di sorgente, intensità ener-





Digitized by Google

getica applicata e tipo di tessuto, in una serie di effetti a volte contrapposti tra di loro.

La produzione e la commercializzazione di sistemi laser a $CO_2$ a bassa potenza ha consentito di poter utilizzare questo effetto saldante, detto *effetto Welding* o effetto «saldatura», della sorgente laser, vale a dire la possibilità di unire tra loro, in una forma particolare di coalescenza, due superfici tessutali.

Sul finire degli anni '70, Morris e Carter misero a punto uno studio che permetteva di utilizzare un laser a $CO_2$ sfruttando potenze dell'ordine di milliwatt per realizzare anastomosi vascolari su vasi di piccolo calibro; successivamente, la tecnica fu ripresa e modificata da vari AA. che impiegarono le sorgenti chirurgiche (argon e Nd:YAG) al fine di confrontare le anastomosi laser-assistite con le anastomosi convenzionali con punti di sutura.

Gli interessi della ricerca, e della successiva applicazione clinica, sono stati rivolti alle anastomosi vascolari, deferenziali, tubariche e in microchirurgia fetale.

**Anastomosi microvascolari laser-assistite (AMLA)**

La tecnica chirurgica per la confezione di AMLA si discosta di poco dalla metodica convenzionale: nel caso di anastomosi termino-terminali si appongono tre punti di sutura a 120° e successivamente si completa l'anastomosi dirigendo il raggio laser nello spazio della rima di sutura compreso tra gli angoli formati dai punti; nel caso di anastomosi termino-laterali, due punti di sutura vengono messi ai due angoli laterali del vaso donatore allo scopo di unire l'estremità terminale del vaso ai corrispettivi angoli della tomia sul vaso ricevente; serrati i due punti si dirige, nello spazio compreso tra gli stessi, il raggio laser prima sulla parete posteriore e, quindi, sulla anteriore (fig. 48).

Se la tecnica non riveste particolari problemi conoscitivi e interpretativi, il meccanismo su cui si fonderebbe il principio fisiopatologico della sutura laser non è ancora del tutto chiarito. Serure *et al.* (1984) hanno proposto che la adesione tessutale derivi dalla denaturazione del collagene presente nelle tuniche medie e avventizie del vaso, favorita dalla polimerizzazione della fibrina. Badeau *et al.* (1986), nel loro studio, riportano un effetto «saldatura» con $CO_2$ a temperature tra gli 80 e i 120 °C; Epstein e Cooley (1986) hanno dimostrato che, impiegando il laser a $CO_2$, la «saldatura» era da attribuirsi all'unione di cellule denaturate e collagene che va incontro a riorganizzazione; tale ipotesi è suffragata da Goldewski che riporta una re-endotelizzazione a partire dal 10° giorno con formazione di neocollagene in stessa data, che assicura una buona tenuta anastomotica dal 20° giorno.

Nei vari studi clinici riportati in letteratura, le potenze impiegate dipendono dalle sorgenti laser utilizzate: White *et al.* (1988) utilizzando l'argon, riportano 0,5 W per fibra

Fig. 48. *A*) Anastomosi vascolare termino-terminale. *B*) Anastomosi vascolare termino-laterale (schema degli interventi).





Digitized by Google

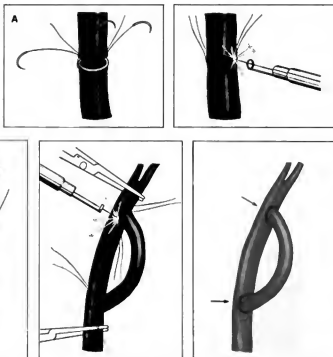
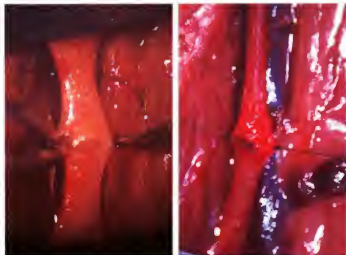



Fig. 49. *A sinistra*: anastomosi termino-terminale su aorta addominale di ratto: parete anteriore; punti di sutura a 120 °C (nylon 9/0). *A destra*: anastomosi termino-terminale su aorta addominale di ratto: parete anteriore; completamento con laser a $CO_2$ (lo *spot* rosso è il raggio guida He:Neon).

ottica di 0,3 micron di diametro a 1 cm di distanza con *spot* di 0,066 $cm^2$ di diametro (7,5 $W/cm^2$ e 950-1,140 $J/cm^2$) con una esposizione totale di 125-150 sec/1cm di lunghezza con 5 impulsi separati da 0,2 sec di intervallo; Frazier *et al.* (1989) per la confezione di anastomosi arterovenose carotido-giugulari su maiale, impiegano il $CO_2$ su guida semiflessibile a potenze di 900 $mW/mm^2$ con *spot* di 0,7 mm di diametro; Ulrieh *et al.* (1988), invece, utilizzano il laser Nd:YAG a 1,32 μm con potenze di 12,5 W a 0,1 sec collegato a una fibra di 200 μm confezionando, su 25 anastomosi arteriose, due rime di sutura; noi stessi (1989) per anastomosi su aorta addominale di ratto (figg. 49 e 50) abbiamo impiegato il laser a $CO_2$ collegato al microscopio operatorio con potenze di 700 mW a 100 impulsi per 0,1 sec con *spot* di 0,2 mm di diametro a una distanza focale di 400 mm.

La quasi totalità degli AA. riporta risultati omogenei negli studi clinici condotti. Epstein e Cooley (1986) riportano una quota di pseudoaneurismi, circa il 10%, nel periodo postoperatorio precoce e ipotizzano, quale spiegazione, che tale quota sia causata dalla rottura delle fibre elastiche dovuta al danno termico indotto dal laser. Quigley *et al.* (1986) hanno dimostrato che l'area suggellata dal laser mantiene una separazione di 200-300 μm della lamina

Fig. 50. Valutazione *ex vivo* della resistenza al carico su anastomosi termino-terminale laser-assistita in aorta addominale di ratto.

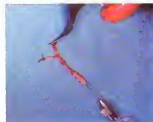
elastica interna per circa 1 anno, *gap* che viene colmato da cellule fusiformi e da iperplasia del tessuto intimale sulla superficie endoluminale.

Recentemente, Ashworth *et al.* (1987), sul problema degli pseudoaneurismi dopo AMLA, hanno notato una minore incidenza di questa complicanza su arterie di grande calibro postulando che la maggiore incidenza di pseudoaneurismi in arterie di piccolo calibro sarebbe dipendente dal maggior danno termico sulla parete vasale.

Ogni sorgente laser ha una sua profondità di penetrazione: dallo 0,1 mm del $CO_2$ ai 4 mm del Nd:YAG; inoltre, alla profondità di penetrazione deve essere aggiunta la diffusione laterale del danno termico.

White *et al.* (1988) suggeriscono, quindi, l'impiego del Nd:YAG per vasi arteriosi di grande calibro ad alta pressione, laser ad argon per vene e arterie di medio calibro (4-6 mm di diametro), laser a $CO_2$ per venotomie, arteriotomie e arterie e vene di piccolo calibro.

Il successo di una anastomosi vascolare, specie di piccolo calibro e impiegando una sorgente laser, se è dipendente dalla sorgente e dalla potenza impiegata è dipendente anche dalla temperatura del tessuto. L'effetto «saldatura», responsabile della tenuta anastomotica, impiegando laser ad argon è indubbiamente più efficace se la temperatura è mantenuta costante, mediante raffreddamento della anastomosi per irrigazione, tra i 43 e i 48 °C; una essiccazione tessutale compare e inficia la buona tenuta anastomotica, se la temperatura raggiunge i 125 °C. L'effetto «saldatura» indotto dall'argon si basa sul fenomeno caratterizzato da un legame fisicochimico nel collagene denaturato e sarebbe dipendente dal concetto termico suddetto; il collagene si legherebbe se l'interazione della rima di sutura è precisa e se la temperatura non subisce improvvisi sbalzi termici. La teoria del collagene legante è supportata dall'esperienza di Schober *et al.* (1986), che descrivono un cambiamento omogeneo del collagene con interdigitazione di fibre elastiche individuali che sembrerebbero essere la struttura base e portante dell'effetto «saldatura».

Tutto ciò condurrebbe a un miglioramento della resi-





Digitized by Google

stenza vasale alla forza pressoria e tensile; aree di legami effettivi coesistono tra collagene ed elastina costituendo la componente maggiore della resistenza vasale.

Comunque, se i dati presenti in letteratura fanno ben sperare in un prossimo impiego in clinica, attenzione deve essere posta nell'individuazione della sorgente laser rispetto al diametro dei vasi da anastomizzare: sorgenti laser quale il Nd:YAG non devono essere utilizzate in vasi il cui diametro sia inferiore a 0,8 mm per il rischio di trombosi o adesione della parete vasale.

Comparando la guarigione di anastomosi microvascolari laser-assistite e di anastomosi microvascolari con punti di sutura si è giunti alle conclusioni che:

a) l'effetto termico è responsabile del legame intimale e dell'adesione della tunica media e avventizia nelle AMLA, contro il legame meccanico dei punti di sutura delle anastomosi convenzionali;

b) la necrosi transmurale è presente in ambedue i gruppi;

c) vi è una differenza macroscopica nella guarigione del vaso suturato in cui nelle AMLA vi è scarsa reazione infiammatoria con cicatrice soffice in contrasto con quanto osservato nelle anastomosi convenzionali;

d) la quota di pseudoaneurismi, attualmente, è svantaggiosa per le AMLA particolarmente nel periodo precoce postoperatorio, ma nettamente a vantaggio per quanto riguarda la quota di deiscenze parziali di anastomosi.

Indubbiamente, la forza tensile e la resistenza al carico sono maggiori nelle anastomosi convenzionali che ne favoriscono per il momento l'impiego clinico; allo stato attuale gli studi condotti hanno permesso di riunire i potenziali vantaggi delle AMLA che possono essere tradotti in:

1) precisione;

2) risparmio di tempo (22 min per le AMLA, 33 min per le anastomosi convenzionali nella nostra esperienza);

3) eliminazione del corpo estraneo endoluminale da materiale di sutura e, quindi, riduzione di fenomeni trombotici, turbolenze e/o stenosi;

4) miglioramento e maggior rapidità di guarigione (Toscano *et al.*, 1988).

**Anastomosi deferenziali**

Dallo sviluppo delle anastomosi microvascolari laser-assistite, l'impiego delle anastomosi laser è giunto al campo del *reversal* dopo vasectomia.

Il successo di un'anastomosi deferenziale dipende non solo dalla tecnica o dalla abilità chirurgica, ma anche da importanti fattori quali: età del soggetto, intervallo tra la vasectomia e la riconversione, esistenza di granulomi spermatici, presenza di anticorpi antispermatozoi. Da una iniziale esperienza microchirurgica, confezionando anastomosi deferenziali con punti di sutura a livello della mucosa e sieromuscolari (fig. 51), l'evoluzione della tecnica ha portato all'impiego di manicotti di meso omentale a protezione della anastomosi con *spot* saldanti il meso stesso sulle pareti del deferente, tecniche sperimentali da noi sviluppate (fig. 52). Successivamente, sono stati condotti studi sperimentali e clinici atti a riportare l'esperienza di laboratorio in clinica.

Con l'impiego del laser a Nd:YAG e dell'effetto saldatura sono state realizzate con successo anastomosi deferenziali impiegando potenze dell'ordine di 10 W con impulsi di 0,5 sec e *spot* di 0,5 mm di diametro portando la pervietà delle anastomosi dal 70 al 90%.

L'accoppiata laser-microchirurgia realizza una significativa riduzione del tempo di sutura che si manifesta in un indubbio vantaggio; per contro, vi è il rischio di avere una cicatrice endoluminale laser-indotta che inficierebbe l'esito dell'anastomosi.

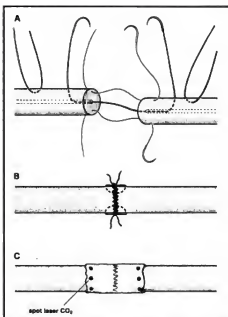



Fig. 51. *A*) Anastomosi deferenziale termino-terminale con punti di sutura siero-muscolari e tutore endoluminale sul filo; *B*) anastomosi laser assistita con punti siero-muscolari di rinforzo; *C*) anastomosi laser assistita senza rinforzo sieromuscolare in nylon 7/0 e con rinforzo esterno di meso deferenziale «saldato» alla parete del deferente con *spot* di laser a $CO_2$ (*schemi degli interventi*).

**Anastomosi tubariche**

Sulla falsariga delle anastomosi deferenziali, vari AA. hanno provveduto all'impiego dell'effetto «saldatura» per la confezione di anastomosi tubariche per *reversal* da steri-

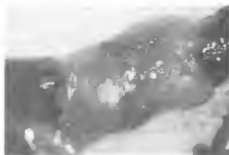



Fig. 52. Anastomosi di deferente di coniglio con meso omentale a protezione anastomotica; sono riconoscibili ai lati del manicotto gli *spot* di saldatura.



Digitized by Google

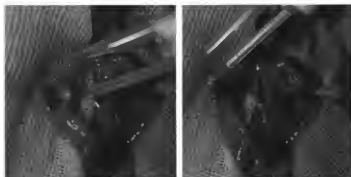



Fig. 53. *A sinistra*: anastomosi intestinale termino-terminale, parete anteriore. *A destra*: parete anteriore completata. (Intestino di ratto; laser a $CO_2$; lo *spot* rosso è il raggio guida a He-Neon).

lizzazione. Il successo dell'applicazione è dipendente dal tempo di esposizione e dal bilanciamento della potenza utilizzata.

Per l'impiego in ginecologia, il laser usato è quello a $CO_2$; potenze d'emissione molto più elevate che per le AMLA sono necessarie essendo comprese in un *range* tra i 700 mW e i 20 W. Negro *et al.*, comparando i dati con l'uso di $CO_2$ su corna uterine di coniglia con i dati di altri AA., hanno riportato il 100% di nascite con il 75% di fertilità (sovrapponibili ai dati ottenuti con suture convenzionali). Anche in questo studio si è avuta una notevole riduzione del tempo operatorio (quasi il 50%).

L'applicazione delle anastomosi laser-assistite nel campo della fertilità femminile offre il vantaggio di ridurre il tempo operatorio, di offrire una migliore emostasi, di realizzare una microchirurgia selettiva e precisa e di ottenere una riduzione del trauma indotto alla tube dalla manipolazione.

**Anastomosi intestinali**

Ultimo nato, nel campo delle applicazioni della «saldatura» tessutale, è l'impiego delle sorgenti laser per confezionare anastomosi intestinali.

Le anastomosi intestinali possono essere realizzate sia in due strati che in monostrato; dall'iniziale impiego dei fili di sutura si è progressivamente passati, attraverso l'uso di cucitrici meccaniche con punti metallici, alla realizzazione di anelli riassorbibili che permettono l'affrontamento dei capi intestinali da anastomizzare senza interferenza di corpo estraneo. Motivo di questa evoluzione è di evitare una delle più serie complicanze di questo tipo di intervento: la deiscenza anastomotica, causata dalla riduzione del flusso ematico regionale, dal trauma e da eventuali contaminazioni e quindi infezioni.

La «saldatura» laser ha recentemente dimostrato la sua efficacia per la confezione di anastomosi precedentemente descritte; successivo passo è stato l'impiego in chirurgia digestiva per realizzare anastomosi intestinali al fine di mantenere l'integrità della parete intestinale evitando il trauma, se pur piccolo, del passaggio dell'ago, nonché la presenza di materiale estraneo a livello anastomotico, riducendo la risposta infiammatoria e immunitaria, diminuendo, quindi, l'eventuale quota di stenosi e deiscenza (fig. 53).

Attualmente sono presenti in letteratura studi sperimentali che hanno utilizzato laser Nd:YAG con potenze di 5 W e impulsi di 5 sec condotti su fibra ottica con *spot* defocalizzato fra 1 e 3 mm e sonda perpendicolare all'anastomosi; l'energia al tessuto varia da 100 a 500 J, la densità di potenza varia da 561 a 544 W/cm$^2$. Altri AA. hanno utilizzato il laser a $CO_2$ con potenze tra 0,5 e 1 W in continua con uno *spot* di diametro di 1,2 mm, con densità di potenza fra 45 e 91 W/cm$^2$. Per l'impiego dell'argon-laser le potenze utilizzate sono state dell'ordine di 0,5-1 W condotte su una fibra di quarzo di 300 μm a una distanza di 1 cm dal tessuto con *spot* del diametro di 2,8 mm e densità di potenza fra 8,1 e 16 W/cm$^2$. Tale tecnica conduceva a una densità di energia fra 240 e 480 J/cm$^2$.

I risultati, attualmente, hanno dimostrato la buona fattibilità della tecnica, valutando la resistenza alla rottura e allo scoppio dell'anastomosi stessa; i risultati ottenuti con l'impiego del Nd:YAG e del laser a $CO_2$ sono pressoché sovrapponibili; inoltre non vi è interferenza con la normale guarigione e crescita dell'intestino dell'animale. Anche nel caso in cui è stato utilizzato l'argon non sono state notate rilevanti alterazioni a livello tessutale, dimostrando che i vantaggi della saldatura laser nei confronti delle suture convenzionali possono includere: mancanza di reazioni da corpo estraneo con marcata riduzione di deiscenze anastomotiche; guarigione migliorata e più veloce; crescita dell'anastomosi correlata alla crescita dell'organismo.

I fattori importanti per una fusione intestinale che abbia successo includono: la lunghezza d'onda del laser, la profondità di penetrazione tessutale e le caratteristiche di assorbimento del tessuto; il successo delle anastomosi sperimentali, benché debba essere certamente convalidato da ulteriori impieghi atti a valutarne la reale applicazione clinica, fa prevedere un loro prossimo impiego.

**Microchirurgia fetale**

Complessi interventi su feti di animali da laboratorio sono stati condotti con successo; malformazioni fetali pericolose per la vita, quali cardiopatie, atresie, ernie diaframmatiche o ostruzioni del tratto urinario post-renale possono richiedere interventi microchirurgici sul feto nel periodo di vita intrauterina. È imperativo, quindi, che si sviluppi una tecnologia avanzata per il progresso in questo particolare tipo di chirurgia «preventiva»; il laser, in questo campo, si pone come strumento chirurgico di grande interesse.

Studi recenti utilizzano il laser a $CO_2$ accoppiato al microscopio operatorio con potenze in continua di 400 mW e *spot* di 150 μm; gli esperimenti sono stati condotti nel pieno rispetto delle norme vigenti e della dichiarazione di Helsinki su feti di ratto di 17 giorni raggiungendo risultati molto buoni.

Al momento attuale sono disponibili strumenti microchirurgici che sono quasi della stessa grandezza delle parti fetali su cui intervenire; utilizzando il laser come bisturi non si altera la posizione intrauterina del feto. In aggiunta la capacità emostatica del laser





Digitized by Google

controlla eventuali sanguinamenti sia del margine uterino che fetale.

Sull'altro versante, il più piccolo *spot* ottenibile è adeguato per l'isterotomia ma sembra troppo ampio per l'incisione fetale. Problema maggiore, quindi, è l'area di vaporizzazione e necrosi termica che si estende per circa 0,6 mm; tale estensione produrrebbe significative alterazioni per animali così piccoli, come nel caso di feto di ratti. È sicuramente un campo in espansione, che necessita, però, di affinamenti tecnologici e di reale individuazione di obiettivi, prima che possa venire applicato alla patologia umana.

**Bibliografia**


Ashworth E. M., Dalsing M., Ollson J. *et al.*, *Lasers Surg. Med.*, 1987, **7**.

Badeau A. F., Lee C. E., Morris J. R. *et al.*, *Lasers Surg. Med.*, 1986, **6**, 179 (abstract).

Epstein M., Cooley C. B., *Lasers Surg. Med.*, 1986, **6**, 202 (abstract).

Flemming A. F. S., Colles M. J., Guillianotti R. *et al.*, *Brit. J. Plastic Surg.*, 1988, **41**, 378.

Frazier O. H., Shebab S. O., Zirl R. *et al.*, *Lasers Surg. Med.*, 1989, **9**, 30.

Gilbert P. T. O., Beckert R., *Lasers Surg. Med.*, 1989, 9, 42.

Hallock G. G., Rice D. C., *Lasers Surg. Med.*, 1989, **9**, 482.

Mercer C. D., Minich P., Pauli B., *Lasers Surg. Med.*, 1987, **7**, 503.

Quigley M. R., Bailes J. E., Kwaan H. C. *et al.*, *Lasers Surg. Med.*, 1986, **6**, 179 (abstract).

Ruiz-Razura A., Lan M., Hita C. E. *et al.*, *J. Reconstr. Microsurg.*, 1988, **4**, 291.

Schober R., Ulrich F., Sander P., *Science*, 1986, **232**, 1421.

Serure A., Withers E. H., Thomsen S., Morris J., *Surg. Forum*, 1984, **34**, 634.

Tesauro B., Negro G., Persico G., Toscano F., *Il laser $CO_2$ in Microchirurgia Sperimentale*, in *Monografie scientifiche - serie Matematiche/Fisica: Laser di potenza - applicazioni mediche*, 1989, Roma, C. N. R., pp. 343-362.

Tesaoro B., Toscano F., Puzziello A., *Welding Effect and Laser Anastomoses*, in *Proceedings of Eurochirurgie*, Paris, 1-4 october 1990.

Tesauro B., Toscano F., Puzziello A., *Use of $CO_2$ Laser in Digestive Surgery*, in *Proceedings of XXV World Congress of Int. Coll. Surg.*, Madrid, 2-6 June 1986.

Toscano F., Agizza S., Puzziello A., *Le anastomosi microvascolari laser-assistite: studio sperimentale sulla resistenza meccanica in fase precoce*, in Tesauro B., Agresti A., *Atti III Congr. Naz. Soc. It. Ric. Appl. Laser (S.I.RA.L.)*, 14-17 dicembre 1988, Monduzzi, Bologna.

Ulrich F., Durselen R., Schower R., *Lasers Surg. Med.*, 1988, **8**, 104.

Vlasak J. W., Kopchok G. E., White R. A., *Lasers Surg. Med.*, 1988, **8**, 573.

Vlasak J. W., Kopchok G. E., White R. A., *Lasers Surg. Med.*, 1988, **8**, 527.

White R. A., Kopchok G. E., Donayer C. E. *et al.*, *Lasers Surg. Med.*, 1988, **8**, 83.


BENIAMINO TESAURO, FRANCO TOSCANO E ALESSANDRO PUZZIELLO

## LASER IN NEUROCHIRURGIA

### Introduzione

La neurochirurgia, come ogni altra disciplina chirurgica, si è avvantaggiata, nel tempo, di tecnologie avanzate che ne hanno migliorato i risultati clinici ed esteso le indicazioni.

Una tappa fondamentale si è avuta negli anni '70 con l'applicazione della tecnica microchirurgica. Si sono raggiunti in tal modo risultati clinici sorprendenti e si è ridotta considerevolmente la morbosità e la mortalità operatoria.

Meno entusiastico, e di conseguenza meno diffuso, è stato invece il consenso per l'uso del laser in neurochirurgia. Vi è stata anzi una certa diffidenza, in molti casi preconcetta e quindi non giustificata, probabilmente legata alla applicazione impropria di tale tecnica nella patologia neurochirurgica.

I primi ad usare un laser al rubinio su tre pazienti affetti da glioblastoma furono Rosomoff e Carroll nel 1966. Lo strumento venne usato però per la irradiazione a bassa potenza del tumore e non per la sua asportazione chirurgica. Successivamente nel 1969 Stellar operò un paziente affetto da glioma cerebrale vaporizzando il tumore con un laser a $CO_2$ e ottenendone una asportazione subtotale. Si dimostrò in tal modo che un nuovo strumento, il laser chirurgico, poteva essere applicato anche in neurochirurgia per la asportazione di tumori del tessuto nervoso. Ulteriori conferme in tal senso vennero a breve distanza ad opera dei neurochirurghi Heppner e Ascher in Austria e Takeuchi e Takizawa in Giappone, i quali sperimentarono positivamente l'uso del laser a $CO_2$, mentre nel 1984 Beck in Germania riportava le prime esperienze con il laser Nd:YAG.

### Vantaggi del laser

Gli interventi neurochirurgici vengono effettuati generalmente in territori molto delicati del S.N.C., per cui molto importante è la massima riduzione del traumatismo operatorio.

Le zone adiacenti al tumore da asportare devono essere attentamente risparmiate perché non si determinino danni neurologici irreversibili. Una norma quindi che va sempre rispettata, in neurochirurgia, è la riduzione progressiva del volume della massa tumorale da asportare, affinché l'isolamento del tessuto patologico dal tessuto sano avvenga sempre sotto il preciso controllo visivo dell'operatore. Tale isolamento può essere più difficile soprattutto nelle sedi profonde, ma anche in superficie quando il tumore è apparentemente ben clivabile. Risulta così evidente l'utilità di uno strumento in grado di ridurre il volume della neoplasia mediante la sua vaporizzazione, senza esercitare azioni traumatizzanti, come con l'uso comune di strumenti chirurgici metallici.

L'applicabilità del raggio laser alla tecnica microchirurgica può avvenire sia mediante un manipolo a mano, che consente anche di defocalizzare il raggio, ottenendo in tal modo riduzione della vaporizzazione a favore di un'azione di emostasi del campo operatorio, sia mediante un micromanipolatore che, applicato al microscopio operatorio, offre il vantaggio di vaporizzare il tumore senza che le mani dell'operatore e gli strumenti chirurgici interposti nel campo operatorio impediscano un corretto controllo visivo. Un vantaggio, come già accennato, è anche quello di un controllo molto più facile del sanguinamento del campo operatorio, quando per l'asportazione del tumore si usi il raggio laser. Tale facilitazione è particolarmente significativa in tumori cerebrali notevolmente vascolarizzati quali i meningiomi ed i neurinomi dell'acustico, come vedremo più avanti.

### Laser a $CO_2$

È lo strumento che ha avuto un più largo impiego in neurochirurgia per le sue proprietà fondamentali di rapida vaporizzazione del tessuto neoplastico e di coagulazione dei piccoli vasi al di sotto di un millimetro (Tew e Tobler, 1986).

Poiché il raggio laser a $CO_2$ viene inattivato dal liquor cerebrospinale e dalla soluzione fisiologica, si può ottenere anche una notevole sicurezza di esercizio di questo strumento: è possibile infatti delimitare il campo operatorio con cotonini imbevuti di soluzione fisiologica e proteggere in tal modo il parenchima cerebrale non infiltrato dal tumore che si vuole vaporizzare. La potenza di esercizio del laser a $CO_2$ va generalmente dai 25 ai 60 W ma può essere aumentata fino ai 100 W; è in rapporto con la sede ove è localizzato il tumore e la consistenza del tessuto. Può essere adoperato sia con onda continua che con onda pulsata o superpulsata.



Digitized by Google

Fig. 54. Laser a $CO_2$ collegato al microscopio operatorio con micromanipolatore.

Questo tipo di laser ha l'inconveniente che il suo raggio non può essere trasmesso mediante fibra ottica ma solo attraverso un braccio articolato, costituito da una serie di cavi nel cui interno vi sono specchi interconnessi in modo da mantenere l'allineamento del raggio laser lungo il decorso del braccio. Vi è dunque una limitazione nella manovrabilità del laser anche se la possibilità di congiungere il braccio al micromanipolatore collegato al microscopio operatorio agevola l'uso dello strumento (fig. 54).

Il laser a $CO_2$ ha trovato tra le sue più valide applicazioni l'asportazione dei meningiomi, soprattutto di quelli della base cranica. Sono, questi, tumori benigni notevolmente vascolarizzati, la cui inserzione sulla dura della base cranica deve essere progressivamente coagulata per distaccare ed asportare il tumore. L'impiego del laser a $CO_2$ riduce così il marcato sanguinamento che generalmente si ha dalla disinserzione della base del tumore.

Altro impiego del laser a $CO_2$ è l'asportazione dei neurinomi dell'acustico, tumori che dal canale acustico si sviluppano nella regione dell'angolo pontocerebellare. Si tratta di neoplasie benigne che devono essere asportate completamente e che sono considerate ancora oggi tra le neoplasie cerebrali più difficili da aggredire. La difficoltà della loro asportazione è proporzionale al volume raggiunto dal tumore, come del resto per tutte le neoplasie cerebrali, ma ancor più per i rapporti che questi contraggono con il tronco encefalico.

Anche per queste neoplasie è fondamentale quindi ridurre progressivamente il loro volume. È molto utile la vaporizzazione e quindi la riduzione del volume del neurinoma con il raggio laser. Inoltre in tal modo lo svuotamento del tumore viene fatto senza alcuna trazione dannosa e senza che l'azione grossolana e traumatizzante di altri strumenti si eserciti sul tronco o sui nervi cranici bassi. Lo svuotamento con il laser riduce di molto l'emorragia del tessuto intracapsulare, tenuto conto però che per vasi di maggior calibro l'emostasi deve essere fatta come di consueto con il coagulatore bipolare. Vi deve essere quindi un'alternanza tra l'uso del laser e l'uso della coagulazione bipolare.

È molto positivo che si possa lavorare con il raggio laser in una regione tanto delicata, premurandosi però di ricoprire il tronco e le altre strutture nervose che si vogliono difendere, con cotonini imbevuti di soluzione fisiologica sui quali, come già detto, il raggio laser perde la sua azione. La precisione del raggio e l'esperienza dell'operatore consentono addirittura di vaporizzare porzioni di tumore in prossimità del nervo facciale, dopo che questo sia stato identificato e protetto con un cotonino.

Un altro gruppo di tumori, che per la loro particolare localizzazione possono venire aggrediti avvalendosi utilmente del laser a $CO_2$, sono i tumori dei ventricoli laterali dell'encefalo. Sono, questi, tumori che presentano una grande varietà, sia nel loro aspetto sia nelle loro caratteristiche istologiche. Tra questi vi sono ependimomi, astrocitomi, papillomi dei plessi coriodei, meningiomi, etc. La caratteristica comune è comunque la loro localizzazione profonda. Questi tumori possono essere aggrediti con diversi approcci, secondo la loro inserzione nella cavità ventricolare, ma comunque sempre con incisioni della corteccia cerebrale che non possono certo essere molto estese per non determinare danni neurologici, specie quando è interessato l'emisfero dominante. Tali incisioni si estendono naturalmente in profondità fino a raggiungere il ventricolo laterale. La possibilità di vaporizzare questi tumori con il laser permette di ridurre l'estensione dell'incisione corticale, di divaricare i margini dell'incisione meno ampiamente con le spatole autostatiche, riducendo di conseguenza il danno e quindi l'edema postoperatorio.

L'associazione della tecnica microchirurgica al laser a $CO_2$ ha quindi facilitato l'asportazione di questi tumori endoventricolari riducendone la morbilità e la mortalità operatoria.

Una indicazione particolarmente valida all'uso del laser a $CO_2$ è quella dell'asportazione dei tumori della parte posteriore del terzo ventricolo e della regione pineale. I tumori di queste sedi sono stati, fino a non molti anni fa, considerati difficilmente aggredibili per l'elevatissimo rischio operatorio. Anche per questi tumori la microchirurgia ci ha permesso di affrontare con relativa sicurezza la loro asportazione.

L'approccio chirurgico generalmente adottato per aggredire questi tumori è la via infratentoriale sovracerebellare che permette una buona esposizione del tumore. La metodica, sicuramente più facilitante per l'asportazione, è la vaporizzazione del tumore con il laser. Ogni altra tecnica è sicuramente più indaginosa, per la profondità del campo operatorio che si deve raggiungere, e più traumatizzante.

Soprattutto nei tumori intramidollari è stata dimostrata la validità dell'uso del laser a $CO_2$. I tumori intramidollari possono essere completamente asportati quando esista un piano di clivaggio tra tumore e midollo, come generalmente accade negli ependimomi midollari. Ma anche negli astrocitomi poter ridurre al massimo il volume del tumore ha un valore terapeutico. Il laser a $CO_2$ ci consente, dopo aver esposto il tumore, la sua vaporizzazione senza alcun traumatismo del midollo adiacente e l'irradiazione del letto operatorio, il che consente migliori garanzie per eventuali recidive (figg. 55 e 56).

**Laser a neodimio: YAG**

Un notevole progressivo interesse da parte dei neurochirurghi si è manifestato per l'uso del laser a Nd:YAG. Le





Digitized by Google

Fig. 55. Ependimoma intramidollare esposto dopo mielotomia.

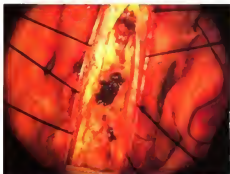



Fig. 56. Focolaio operatorio dopo asportazione dell'ependimoma e coagulazione della base di impianto con laser a $CO_2$.

sue proprietà sono quelle di vaporizzare, coagulare e coartare i tessuti, ma la sua azione più specifica è quella di poter coagulare vasi di circa 1,5 mm di diametro. Per questo è stato impiegato soprattutto per le malformazioni arterovenose cerebrali, nei tumori notevolmente vascolarizzati, come ad es. i meningiomi, e nella chirurgia endoscopica. Il vantaggio di questo laser è anche quello che il suo raggio può essere trasmesso attraverso fibre ottiche. Questo rende molto più maneggevole lo strumento che può, quindi, essere introdotto anche in profondità come avviene ad es. nella chirurgia endoscopica ed endoventricolare per l'asportazione di tumori dei ventricoli cerebrali. Esso ha trovato impiego anche nella chirurgia stereotassica-guidata, cioè quella chirurgia che consente di operare neoplasie profonde che vengono identificate con guida stereotassica e successivamente esposte attraverso piccole incisioni cerebrali. La fibra ottica che conduce il raggio laser Nd:YAG viene quindi agevolmente introdotta nel tragitto praticato nel tessuto cerebrale per poter quindi vaporizzare il tessuto neoplastico.

Grande esperienza nell'asportazione delle malformazioni arterovenose operate con il laser Nd:YAG è stata fatta sia da Tew *et al.* (1988) sia da Sundt. L'utilizzazione di questo strumento si è dimostrata particolarmente utile in queste lesioni perché si può ottenere una buona demarcazione tra malformazione arterovenosa ed il tessuto cerebrale circostante. È possibile poi coagulare ogni componente durale della malformazione ed ottenere una sicura emostasi del letto operatorio dopo l'asportazione della malformazione.

Quando è usato entro i limiti di potenza consigliati, anche il laser Nd:YAG si rivela uno strumento sicuro che non determina danni in profondità. Il laser Nd:YAG è capace di coartare e coagulare i vasi piccoli e serpiginosi delle malformazioni arterovenose, mentre i vasi devono essere coagulati con il coagulatore bipolare.

I laser Nd:YAG che normalmente vengono impiegati in neurochirurgia hanno una lunghezza d'onda di 1,06 μm. Più recentemente però ha trovato applicazione anche il laser Nd:YAG a 1,32 μm, con un potere di assorbimento nell'acqua dieci volte superiore rispetto a quello a 1,06 μm, e che porta ad una più efficiente trasformazione della energia in calore nei tessuti. Anche il coefficiente di estinzione nel sangue è un terzo rispetto a quello a 1,06 μm e ciò porta ad una minor dispersione di calore nel sangue e ad una maggior penetrazione nei tessuti; vi è cioè un sicuro effetto di asportazione soprattutto dei tessuti con un alto contenuto di acqua. Questi laser sono impiegati per l'asportazione di meningiomi, ependimomi, neurinomi dell'acustico, tumori ed angiomi midollari e, fatto di grande rilievo, anche di tumori nella regione del chiasma e dei nervi ottici e dei tumori del tronco. Il laser Nd:YAG a 1,06 μm, per la sua maggiore capacità di penetrazione in profondità, non consentiva infatti il suo uso nei tumori del tronco encefalico.

**Laser ad argon**

Il laser ad argon è stato anch'esso provato in neurochirurgia. Può essere accoppiato al microscopio operatorio mediante fibre ottiche e manovrato con un micromanipolatore.

Il suo raggio è visibile e quindi non deve essere accoppiato a nessun altro raggio guida, come per il laser a $CO_2$, dove viene impiegato un fascio di luce laser-visibile, generalmente elio-neon, coassiale con il fascio laser a $CO_2$. Ha un potere di densità utile per una rapida vaporizzazione di un tumore fibroso con *spot* di 2 mm di diametro. Il raggio del laser ad argon è selettivamente assorbito dall'emoglobina, il che aumenta la coagulazione e la vaporizzazione di tumori vascolarizzati, come l'emangioblastoma. Il suo raggio è anche trasmesso attraverso l'acqua e perciò può essere usato facilmente per l'emostasi anche quando il tessuto sanguinante viene lavato con acqua. Una proprietà significativa del laser ad argon è quella di poter realizzare fini incisioni nei tessuti nervosi, come viene richiesto per la mielotomia o per la sezione del corpo calloso. Il suo impiego è consigliato nei meningiomi, negli emangioblastomi, nei tumori intramidollari, nei medulloblastomi, nei neurinomi dell'acustico, negli adenomi ipofisari. Non ha invece applicazione utile nei gliomi maligni e nelle malformazioni arterovenose.

Il laser ad argon-colorante organico è stato anche impiegato nella terapia fotoradiante dei tumori maligni (Laws *et al.*, 1985). L'ematoporfirina e alcuni suoi derivati chimici possono accumularsi in grande quantità e permangono per un lungo periodo nei tessuti neoplastici mentre ciò non avviene nei tessuti normali. Tali sostanze, una volta accumulatesi nei tessuti tumorali, possono essere selettivamente distrutte quando sono raggiunte da un fascio luminoso di appropriata lunghezza d'onda e intensità in presenza di ossigeno. Questo fenomeno viene detto terapia fotoradiante o terapia fotodinamica dei tumori (v. coll. 4333 e 4363);





Digitized by Google

i tessuti peritumorali non sono di regola coinvolti nel fotoprocesso. Ricerche per il trattamento dei tumori cerebrali maligni mediante fotoradiazione sono state fatte da Laws, da Perria e da altri AA. La fotoradiazione viene emessa da una sorgente argon-colorante organico con luce trasmessa attraverso fibre di quarzo, che possono raggiungere per via stereotassica tumori profondi considerati inoperabili.

I risultati finora ottenuti non possono considerarsi conclusivi, ma sono incoraggianti e inducono a continuare in tale ricerca terapeutica.

**Bibliografia**

Beck O. J., *Neurosurg. Rev.*, 1984, 7, 151-158.
Laws E. R. jr., Wharen R. E. jr., Anderson R. E., *The Treatment of Brain Tumors by Photoradiation*, in Pluchino F. *et al.* eds., *Advances Technology in Neurosurgery*, 1985, Springer, Berlin, New York, pp. 46-60.
Tew J. M. jr., Tobler W. D., *Present Status of Laser in Neurosurgery*, in Symon L. *et al.* eds., *Advances and Technical Standards in Neurosurgery*, 1986, vol. 13, Springer, Wien, New York, pp. 3-36.
Tew J. M. jr., Tobler W. D., Zuccarello M., *The Treatment of Arteriovenous Malformations of the Brain with Neodymium: YAG Laser*, in Downing E. F. *et al.* eds., *Laser in Neurosurgery*, 1988, Springer Wien, New York, pp. 19-48.

FRANCO PLUCHINO

## LASER IN CARDIOCHIRURGIA

**Introduzione**

Malgrado gli indiscutibili successi terapeutici ottenuti con il *bypass* aortocoronarico nel trattamento della cardiopatia ischemica (v. CARDIOCHIRURGIA*), non si deve dimenticare la natura palliativa di questo tipo di intervento. Infatti la tecnica ideale nei confronti della patologia ostruttiva di un vaso arterioso è quella che direttamente si rivolge all'eliminazione della placca arteriosclerotica, permettendo così di ristabilire il fisiologico flusso anterogrado lungo tutto l'asse del vaso

L'utilizzazione dell'energia laser, dapprima nelle arterie periferiche (v. sotto, col. 4398) e quindi nei più sottili rami coronarici ha reso possibile questa radicale modifica della terapia di rivascolarizzazione miocardica. Numerosi studi sperimentali iniziati negli anni '70 hanno dimostrato la possibilità di dissolvere la placca arteriosclerotica sfruttando l'azione fotoablativa dell'energia laser. I primi entusiasmi furono presto mitigati dall'osservazione costante che anche la parete vasale sana subiva alterazioni tali da provocare molto spesso perforazioni, dissezioni o trombosi in percentuali inaccettabili. Tuttavia l'introduzione nel 1978 da parte di Grüntzig dell'angioplastica transluminale percutanea (v.*) e il suo enorme successo, diedero nuovo impulso alla ricerca in questo campo di applicazione medica del laser, nella speranza di ottenere l'eliminazione della placca arteriosclerotica e non già il suo rimodellamento, evitando, se possibile, l'intervento chirurgico. Si cercò quindi tra le varie sorgenti di energia laser quella che producesse una lunghezza d'onda fornita di diverse qualità: capacità di penetrazione nei tessuti, facilità di propagazione attraverso un catetere flessibile e una certa specificità verso i tessuti bersaglio. Tuttavia, le sensibili differenze nella morfologia e nella struttura istologica delle placche arteriosclerotiche, gialle e soffici quelle ricche di colesterolo, bianche e resistenti quelle ricche di tessuto fibroso e di calcio, hanno costretto a ricercare diversi accorgimenti tecnici nel tentativo di mantenere o potenziare la capacità ablativa della energia laser, riducendo per quanto possibile i suoi effetti negativi sulla parete vasale sana. Tra questi, i più promettenti risultano essere l'angioscopia mediante sonde di calibro sempre più ridotto (0,5 mm), la fotosensibilizzazione della placca mediante somministrazione di sostanze coloranti (ematoporfirine, carotenoidi) (v. sopra, coll. 4333 e 4339), selettivamente assorbite dai depositi di colesterolo, e infine un complesso sistema di analisi spettroscopica della diversa fluorescenza emessa dalla parete vasale sana e malata. Quest'ultima tecnica, benchè assai complessa e costosa, accoppiata a un sistema automatico di accensione e spegnimento dell'apparecchio laser, è quella che sta offrendo attualmente gli sviluppi più promettenti (v. sotto, col. 4397).

**Apparecchi laser**

I laser più utilizzati sono stati fino a oggi il laser ad argon e il laser a Nd:YAG. L'effetto termico, prodotto negli strati sottostanti della parete arteriosa, provoca alterazioni tali da favorire lo spasmo, l'aggregazione piastrinica e la perforazione. L'esame istologico di sezioni di parete vasale trattata evidenzia, infatti, un'area più o meno profonda di carbonizzazione, circondata da un'area di necrosi e di vacuolizzazione. La zona di necrosi e carbonizzazione diviene facilmente sede di depositi piastrinici, mentre la zona di vacuolizzazione, indebolendo la parete arteriosa, può portare alla formazione di aneurismi o alla perforazione. Sono stati, quindi, introdotti i laser a raggi U.V. o a «eccimeri» (figg. 57 e 58), che riducono notevolmente gli effetti termici e che permettono un'ablazione «pulita» anche di placche calcifiche, dimostrata, all'esame istologico, dall'assoluta integrità dei tessuti circostanti. Anche lo spasmo arterioso, costante in presenza dell'azione termoablativa, viene sostituito in questo caso da un favorevole fenomeno di rilasciamento.

Recentemente Litvack *et al.* (1990) hanno riportato i risultati preliminari su 685 pazienti trattati con angioplastica con laser a eccimeri.

**Cateteri sonda**

Di pari passo la ricerca si è impegnata nella realizzazione di vari tipi di catetere idonei a trasportare l'energia laser a diretto contatto con la placca arteriosclerotica. Le prime fibre ottiche a estremità nuda, riconosciute troppo traumatizzanti, sono state sostituite da cateteri forniti in punta di lenti di varia morfologia (corolla) o di un cappuccio metallico (*hot tip*; v. anche sotto, col. 4400), in modo da distribuire su di una superficie più ampia l'energia dei laser a emissione continua, trasformata in questo caso totalmente in energia termica. È così possibile con un catetere di piccolo diametro ottenere un neolume di calibro sensibilmente superiore. Un altro tipo di catetere, cosiddetto ibrido, è costituito da una sonda a cappuccio metallico, fornito di una finestrella da cui fuoriesce circa il 20% di energia in forma di radiazione luminosa (effetto termoablativo accoppiato a quello fotoablativo).

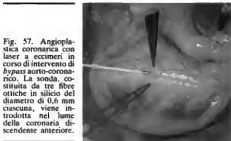
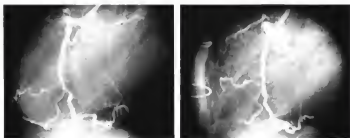



Fig. 57. Angioplastica coronarica con laser a eccimeri in corso di intervento di *bypass* aorto-coronarico. La sonda, costituita da tre fibre ottiche in silicio del diametro di 0,6 mm ciascuna, viene introdotta nel lume della coronaria discendente anteriore.

Fig. 58. Angiografia selettiva della coronaria destra in proiezione laterale prima (*a sinistra*) e dopo (*a destra*) angioplastica intraoperatoria con laser a eccimeri. Riduzione della stenosi dal 75% a circa il 20%.

Un ulteriore perfezionamento è stato ottenuto applicando a un catetere a palloncino alcune fibre ottiche, in grado di provocare una limitata ablazione della placca in corso di angioplastica percutanea tradizionale. Con l'avvento dei laser a emissione pulsata, con effetto termico molto ridotto, si è ritornati all'uso di fibre ottiche nude in quarzo, singole o riunite in fascio, con la possibilità di associare nel medesimo catetere una guida metallica o un sottile angioscopio. Una limitazione è però costituita dalla scarsa flessibilità delle fibre in silicio, che diminuisce proporzionalmente all'aumentare del diametro del catetere. Non trascurabile è infatti l'osservazione che il neolume ottenuto da questo tipo di laser è esattamente dello stesso diametro del catetere e pertanto quest'ultimo non può essere inferiore ad un certo calibro.

**Esperienza clinica**

La prima applicazione clinica di un laser nella chirurgia delle coronarie fu riportata nel 1982 da Choy *et al.* In 5 pazienti, prima di eseguire un tradizionale *bypass* aortocoronarico, si tentò di ottenere la ricanalizzazione del tratto prossimale del vaso mediante laser ad argon, con 3 successi e una perforazione. In seguito numerosi chirurghi si cimentarono nell'angioplastica laser a torace aperto, in associazione al *bypass*, usando vari tipi di laser e di sonde, ottenendo risultati incoraggianti, ma con una costante percentuale, non trascurabile, di insuccessi: perforazioni, dissezioni od occlusioni del vaso trattato. Fattori di rischio sono costituiti da: placche eccentriche, presenza di calcificazioni, sede attigua a biforcazioni o ramificazioni. Alcuni perfezionamenti del catetere, come l'applicazione di una testa metallica (*hot tip*: punta calda) o l'utilizzo di laser a emissione pulsata hanno permesso una sensibile riduzione delle complicanze.

L'utilizzo di sofisticate tecniche di guida del catetere, quali l'angioscopia, l'ultrasonografia bidimensionale intraluminale e l'analisi spettroscopica di fluorescenza, stanno portando ogni giorno a una sempre maggiore sicurezza della tecnica laser, anche nell'uso percutaneo, avvenuto per la prima volta nell'uomo nel 1986, con laser ad argon e catetere a punta calda. Per il momento le indicazioni cliniche all'uso di questa tecnica nel campo della rivascolarizzazione miocardica a cuore aperto si limitano all'eliminazione di placche stenosanti distalmente alla sede di *bypass*; se l'angioplastica laser viene effettuata su stenosi prossimali è buona norma applicare a valle un *bypass* tradizionale, in attesa di conoscere meglio l'evoluzione a distanza della parete vasale così trattata.

Anche in altri settori della cardiochirurgia il laser ha fatto intravedere applicazioni, spesso solo sperimentali, ma molto promettenti come l'ablazione estremamente precisa di fasci aberranti del sistema di conduzione, l'esecuzione di microanastomosi, la decalcificazione dei lembi valvolari aortici stenotici, la sezione di tessuto muscolare ipertrofico nella miocardiopatia ostruttiva, l'esecuzione di un'atriosettostomia palliativa per via percutanea. Un'altra applicazione, oggi sempre più utilizzata, è costituita dall'angioplastica laser-assistita, indispensabile nei casi in cui una placca risulti impervia al catetere guida; il neolume così ottenuto viene successivamente allargato dal palloncino e infine rimodellato dal laser stesso per riparare eventuali microdissezioni e frustoli intimali.

Il continuo progresso tecnologico nel campo degli apparecchi laser, la rapida evoluzione dei materiali e delle tecniche di costruzione delle fibre ottiche e il perfezionamento di strumenti diagnostici di supporto porteranno quasi certamente a rivoluzionare entro breve tempo l'approccio medico-chirurgico alla malattia arteriosclerotica. Non si deve dimenticare però che, per utilizzare su vasta scala questa tecnica assai costosa, sarà necessario dimostrare con dati clinici inconfutabili la sua superiorità rispetto ad altre metodiche più economiche, di sperimentata efficacia e a basso rischio.

Per ulteriori informazioni, v. anche sotto, *laser nel trattamento della arteriopatia periferica* (col. 4398).

**Bibliografia**

Abela G. S., *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 1988, **36**, 137.
Choy D. S., Stertzer S., Rotterdam H. Z. *et al.*, *Am. J. Cardiol.*, 1982, **50**, 1206.
Cragg A. H., Gardiner G. A., Smith T. P., *Radiology*, 1989, **172**, 925.
Fleischer H. L., Thompson B. W. *et al.*, *Am. J. Surg.*, 1987, **154**, 666.
Fuller T. A., *Surg. Clin. North Am.*, 1984, **64**, 843.
Grundfest W. S., Litvack F. *et al.*, *J. Vasc. Surg.*, 1987, **5**, 667.
Kjellstrom B. T., Cothern R. M., Kramer J. R., *Acta Chir. Scand.*, 1987, **153**, 493.
Lee G., Ikeda R. M. *et al.*, *Am. J. Cardiol.*, 1985, **56**, 181.
Litvack F., Grundfest W. S. *et al.*, *Surg. Med.*, 1988, **8**, 60.
Litvack F., Margolis J., Rothbaum D. *et al.*, *Circulation*, 1990, **81** (Suppl. IV), 109; 1990, **82** (Suppl. III), 71.
Livesay J. J., in Walter P. J. ed., *Treatment of End-Stage Coronary Artery Disease*, *Adv. Cardiol.*, 1983, vol. **36**, Karger, Basel, p. 54.
Olliver J. P., Avrillier S. *et al.*, *Arch. Mal. Coeur*, 1988, **3**, 261.
Samborn T. A., *Circulation*, 1988, **78**, 777.
Welch A. J., Torres J. H., Cheong W. F., *Tex. Heart Inst. J.*, 1989, **16**, 141.

VINCENZO GALLUCCI E ALBERTO FRACASSO

## LASER NEL TRATTAMENTO DELLA ARTERIOPATIA PERIFERICA

**Introduzione**

L'angioplastica transluminale percutanea (v.*) ha rappresentato una profonda innovazione nel trattamento delle ar-





Digitized by Google

teriopatie (Grüntzig e Hopff, 1974). L'impossibilità di ricanalizzare le occlusioni arteriose e l'elevata percentuale di ristenosi sono i limiti maggiori di questa tecnica, ampiamente utilizzata in campo clinico (Wildus e Osterman, 1989).

Gli studi sperimentali condotti nei primi anni '80 dimostrarono la capacità della radiazione laser di vaporizzare il materiale lipidico-trombotico della placca aterosclerotica, lasciando una superficie liscia. In base a questi dati, che parevano ideali per superare i limiti dell'angioplastica, il laser fu introdotto in campo clinico (Barbieri *et al.*, 1988).

**Sistema laser con *bare fiber***

Il primo sistema laser utilizzato in campo clinico fu il più semplice, essendo costituito dalla fibra ottica nuda (*bare fiber*) e da una sorgente laser ad argon o a Nd:YAG, uniche lunghezze d'onda che potevano a quei tempi essere trasmesse in fibra. Con questo sistema si dimostrò che il laser era in grado di ricanalizzare le arterie periferiche (Ginsburg *et al.*, 1985). Tuttavia la fibra ottica di calibro sottile (300-600 μm) e quindi con estremità aguzza e traumatica poteva facilmente, specie in vasi tortuosi, penetrare all'interno della parete arteriosa e perforare il vaso obbligando a sospendere la procedura (Lee *et al.*, 1985). Per ovviare a tale inconveniente l'estremità distale della fibra ottica è stata inserita all'interno di un palloncino gonfiabile che consente di mantenere la coassialità vasale. Inoltre la punta della fibra è stata modificata, in modo da aumentare l'angolo di divergenza del fascio luminoso, diminuendo la quantità di energia somministrata per unità di tessuto (fig. 59). Entrambe queste modifiche hanno consentito di ridurre, ma non eliminare, la percentuale di perforazioni vasali (Nordstrom *et al.*, 1988).

Fig. 59. Una fibra ottica da 200 μm è contenuta all'interno di un palloncino. Il palloncino gonfiato mantiene la fibra coassiale. La modificazione dell'estremità distale della fibra consente l'emissione della radiazione argon con un angolo di divergenza di 40 gradi. Il *marker* metallico consente la visualizzazione in scopia della fibra. (*Da GV Medical, Inc.*).

**Sistema laser con *hot tip***

I rischi di perforazione vasale connessi all'uso della fibra ottica hanno indotto alcuni studiosi a ricoprirne l'estremità distale con un cappuccio metallico (*hot tip*: punta calda). La forma a oliva della punta metallica favorisce il mantenimento della coassialità vasale, riduce la traumaticità della fibra nuda e inoltre la somministrazione non più diretta della radiazione laser, ma mediata attraverso il riscaldamento del metallo, minimizza il rischio di perforazione. L'esame istologico dei vasi arteriosi trattati con il sistema laser punta calda dimostra un cratere centrale di vaporizzazione prodotto da temperature > 180 °C, circondato da una rima sottile di carbonizzazione e da una zona di vacuolizzazione, formata da piccole cavità, prodotta da temperature > 120 °C e da una terza zona di coagulazione dovuta alla graduale disidratazione e contrazione cellulare, per temperature superiori ai 60 °C.

Il sistema laser punta calda, concettualmente semplice, ha consentito un'ampia diffusione nei paesi anglosassoni del laser nel trattamento delle arteriopatie periferiche, dovuta anche ai primi studi pubblicati che avevano evidenziato una elevata percentuale di ricanalizzazione arteriosa (70-80%) anche in vasi occlusi, con un contenuto rischio di perforazione (Cumberland *et al.*, 1986) (fig. 60).

Tuttavia questo sistema si basa su una applicazione indi-

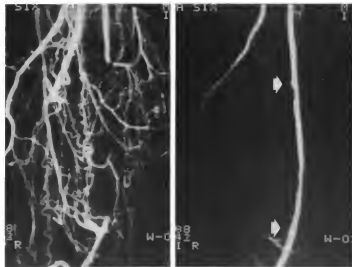



Fig. 60. Ricanalizzazione di arteria femorale superficiale mediante sistema laser punta calda. La ricanalizzazione della lunga occlusione arteriosa mediante sistema a punta calda seguito da dilatazione con palloncino ha determinato la scomparsa dell'imponente circolo collaterale. *A sinistra*: prima del laser; *a destra*: dopo angioplastica-laser. (*Riprodotto con autorizzazione di Perbellini A., Barbieri E., Taddei G. et al.: Vascular Surgery, 1989*).

retta della radiazione laser, usata per riscaldare il metallo. Ne derivano tre importanti conseguenze: 1) l'azione termica della punta metallica, resa calda dal laser, espone il collageno sottoendoteliale con conseguente elevato rischio di trombosi acuta, specie nei vasi di piccolo calibro quali le arterie tibio-peronee e le arterie coronarie e la possibilità di perforazioni vasali per le alterazioni dell'integrità del tessuto circostante la zona ablata. 2) La temperatura raggiunta dal metallo non è adeguata per vaporizzare le eventuali calcificazioni presenti in sede di occlusione, come anche da noi riscontrato nella nostra esperienza (Perbellini, Barbieri *et al.*, 1989). 3) Un'ablazione termica può essere ottenuta con sistemi più economici (per es. la radiofrequenza).

L'esperienza clinica inoltre ha dimostrato che la punta calda è efficace nella ricanalizzazione arteriosa di vasi di ampio calibro (arterie iliache, ma soprattutto arterie femoro-poplitee, ove le complicanze dovute a un'eventuale perforazione sono modeste), tuttavia la percentuale di ristenosi è elevata, specie nelle occlusioni lunghe. Ulteriori modifiche apportate al sistema, quali un foro all'estremità distale della punta metallica per permettere l'emissione di energia laser (Abela *et al.*, 1987), pur consentendo la creazione di un canale di ricanalizzazione più ampio e una maggiore efficacia sui depositi calcifici, non hanno modificato sostanzialmente i limiti della tecnica.

**Sistema laser con «punta di zaffiro»**

Questo sistema è caratterizzato da una modifica del sistema di somministrazione dell'energia ottenuto, connettendo la estremità distale della fibra ottica a una lente emisferica di zaffiro del diametro di 20-25 mm (fig. 61). I vantaggi di questa modifica sono dovuti alle dimensioni maggiori della lente rispetto alla fibra ottica, alla sua resistenza alle elevate temperature, alla somministrazione diretta dell'energia luminosa. Si ritiene attualmente che il sistema operi con un duplice meccanismo: *diretto*, legato all'emissione luminosa, e *termico*, per surriscaldamento della lente quando opera in contatto con il tessuto, oltre a un'azione di dilatazione meccanica, comune a tutte queste procedure. Ne consegue che la percentuale di vasi arteriosi ricanalizzati che di complicanze è simile al sistema a punta calda (Lammer *et al.*, 1988).

Questi sistemi laser sono stati usati prevalentemente utilizzando una sorgente laser ad argon o a Nd:YAG a emissione continua. Lo sviluppo di fibre ottiche in grado di trasmettere la radiazione laser emessa per impulsi di breve durata ma con potenze più elevate dei laser a emissione continua (laser pulsati) ha consentito di utilizzare clinicamente uno spettro più esteso di lunghezze d'onda.

**Laser a eccimeri**

L'innovazione rappresentata dall'introduzione del laser a eccimeri (v. sopra, col. 4314) si basa sui dati sperimentali che dimostrano la capacità della radiazione ultravioletta di vaporizzare il tessuto con minimo o assente effetto termico, lasciando una superficie a margini netti e senza danno ai tessuti circostanti (Barbieri *et al.*, 1990).

Questi presupposti sono ideali per un uso vascolare al fine di ridurre soprattutto il danno termico, riscontrato con le metodiche precedenti. L'introduzione di questa nuova lunghezza d'onda (308 nm) in campo umano è stata accompagnata anche da sostanziali modifiche apportate al sistema di somministrazione dell'energia laser. Sono stati costruiti cateteri, di vario calibro (1,6-3,2 mm) costituiti da numerose (12-19) fibre ottiche di dimensioni molto ridotte (100-250 μm), assemblate circolarmente intorno a un canale centrale, attraverso cui possono essere avanzati una guida o un microangioscopio. Lo scopo di questi nuovi cateteri è la creazione di un canale di ricanalizzazione di calibro adeguato dopo applicazione laser, tale da non richiedere la successiva dilatazione con palloncino. I dati clinici raccolti, anche presso l'Università di Verona (Barbieri *et al.*, 1990) (fig. 62), nel trattamento della arteriopatia periferica con il laser a eccimeri, pur essendo ancora in una fase preliminare, evidenziano una buona percentuale di ricanalizzazione primaria (70%), una maggior efficacia sui minuti depositi calcifici, una superiore capacità ablativa, evidenziata dal più ampio lume di ricanalizzazione e verosimilmente un inferiore rischio di perforazione, dovuto al ridotto o assente danno termico a carico della media e dell'avventizia. La più lenta velocità di vaporizzazione rende la metodica più lunga rispetto ai precedenti sistemi. Attualmente è in corso negli U.S.A. uno studio multicentrico sull'efficacia e sicurezza del laser a eccimeri nel trattamento dell'aterosclerosi coronarica (Litvack *et al.*, 1990). Tali dati saranno estremamente importanti per valutarne vantaggi e limiti nel trattamento dell'arteriopatia dei vasi arteriosi di piccolo calibro quali le arterie coronarie e quindi trarne utili indicazioni per l'uso nel distretto arterioso tibio-peroneo. Tuttavia solo adeguati studi a distanza dei pazienti trattati potranno chiarire se l'ablazione con la lunghezza d'onda nell'ultravioletto riduce la frequenza di ristenosi.

Fig. 61. *In alto*: punta di zaffiro con connettore metallico. Il foro laterale nel connettore metallico consente il passaggio della soluzione salina per raffreddare la lente (riprodotto da *SLT, Inc.*). *In basso*: durante attivazione laser.

All'evoluzione nel campo della tecnologia delle fibre ottiche si è accompagnato un continuo sforzo alla ricerca di nuove lunghezze d'onda, in grado soprattutto di «ablare» le placche aterosclerotiche calcifiche. Gli studi di spettrofotometria (Nuss *et al.*, 1988) hanno documentato che i componenti dei depositi calcifici, fosfato di calcio e idrossiapatite, assorbono le lunghezze d'onda nel campo dell'infrarosso fra 2,9 e 3,3 μm e fra 9,2 e 9,7 μm e che l'acqua, componente di ogni tessuto, ha il suo picco di assorbimento a 2,7-3,2 μm. Ne consegue che i laser con emissione a 10,6 μm (laser a $CO_2$) ma soprattutto a 2,9 μm (laser a erbion) dovrebbero essere ideali per la disostruzione di arterie calcifiche. Numerose ricerche sono in corso per produrre fibre in grado di trasmettere la lunghezza d'onda del laser a $CO_2$, mentre le fibre ottiche per la trasmissione dell'erbion sono estremamente fragili. Si è pertanto ripiegato sul laser ad olmio (Ho) (2,1 μm). Questa lunghezza d'onda è in grado





Digitized by Google

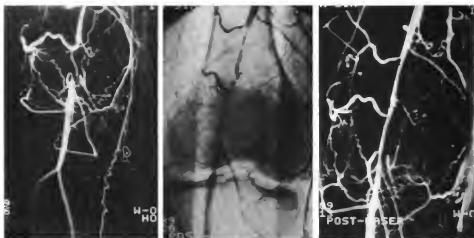



Fig. 62. Occlusione dell'arteria poplitea ricanalizzata mediante laser a eccimeri. *A sinistra*: pre laser; *al centro*: la fibra laser è all'interno dell'occlusione; *a destra*: dopo la sola applicazione laser (il canale di ricanalizzazione, già di buon calibro dopo applicazione laser, è stato successivamente ampliato da dilatazione con palloncino). (*Procedura eseguita presso l'Istituto di Radiologia dell'Università di Verona*).

di «ablare» il calcio in maniera precisa, ma con maggior danno acustico rispetto al laser a erbio; tuttavia ha il vantaggio di poter essere trasmessa dalle comuni fibre ottiche. Attualmente vi è un crescente interesse per l'uso clinico di questa lunghezza d'onda.

**Sistemi laser guidati**

Nonostante i notevoli progressi compiuti nella ricerca sia di lunghezze d'onda con modesto o assente effetto termico sia di adeguati sistemi di somministrazione della radiazione luminosa, la perforazione vasale resta il «limite» maggiore della tecnica laser. Per ovviare a questo sono stati considerati vari sistemi, di cui la spettroscopia a fluorescenza e l'angioscopia ultrasonica appaiono attualmente i più promettenti.

*Spettroscopia a fluorescenza*

Numerosi studi sperimentali *in vitro* hanno dimostrato che con il laser (utilizzando numerose lunghezze d'onda) si ottengono spettri di fluorescenza diversi per la parete vasale normale e aterosclerotica. La ragione è principalmente dovuta all'elevato contenuto in fluorofori, essenzialmente carotenoidi, della placca aterosclerotica, che ne determinano il colore giallo. Ne consegue che la superficie endovasale delle arterie colpita dalla radiazione a bassa potenza del laser emette uno spettro di fluorescenza. Tramite la stessa fibra ottica lo spettro di fluorescenza viene trasmesso a un analizzatore computerizzato che discerne la parete sana da quella malata e invia attraverso la stessa fibra un impulso laser ad alta potenza per «ablare» il tessuto aterosclerotico.

Tale sistema, che prende il nome di «laser intelligente», è stato recentemente sperimentato nella ricanalizzazione arteriosa periferica con un successo primario del 70-80%, tuttavia la perforazione vasale e la dissecazione non sono state eliminate (Leon e Geschwind, 1988). Quindi anche tale sistema guidato non è scevro dalla complicazione «perforazione» e inoltre il costo elevato, la lentezza della procedura e la intrinseca complessità ne limitano un esteso uso clinico.

Il tentativo infine di aumentare la capacità di discriminazione fra costituenti normali e patologici della parete vasale, tramite l'uso di composti fluorescenti esogeni quali le tetracicline e i derivati dell'ematoporfirina, che si legano principalmente ai costituenti della placca, sebbene stimolante dal punto di vista della ricerca, è risultato di scarsa utilità clinica.

*Angioscopia ultrasonica*

Le molte speranze riposte nell'angioscopia intravasale per una più mirata somministrazione dell'energia laser sono andate parzialmente deluse per le difficoltà tecniche di rimozione del sangue, per la modesta qualità delle immagini e per l'ingombro dell'attrezzatura. Si è quindi pensato alla nuova tecnica di visione intravascolare costituita dalla angioscopia ultrasonica (Yock *et al.*, 1988). Tramite un catetere di 1,2 mm con un trasduttore di 20 MHz in punta, che emette un fascio ultrasonico perpendicolarmente all'asse longitudinale del vaso, è possibile discernere la struttura a tre strati della parete arteriosa, lo spessore della placca e i depositi calcifici. Il limite maggiore della metodica è la valutazione della parete trasversalmente all'asse del vaso e non davanti alla punta del catetere, come sarebbe utile per puntare con precisione il raggio laser sulla placca aterosclerotica.

**Conclusioni**

L'esperienza clinica nell'uso del fascio laser nel trattamento della arteriopatia periferica permette di trarre alcune utili conclusioni: 1) il sistema laser è utilizzabile per via percutanea ed è efficace nella ricanalizzazione arteriosa, specie nelle occlusioni complete, ove i sistemi tradizionali quali l'angioplastica sono inefficaci; 2) le complicanze spasmo



Digitized by Google

vasale, embolizzazione distale sono percentualmente modeste (< 5%), mentre la perforazione vasale incide in percentuale variabile (10-20%), a seconda della patologia vasale (calcificazioni, tortuosità, lunghezza); 3) il distretto arterioso più idoneo all'uso del laser è l'asse femoro-popliteo, per la relativa facilità di approccio e per il modesto significato clinico delle complicanze. Il settore iliaco presenta un rischio maggiore in caso di perforazione e l'asse tibio-peroneo ha un elevato rischio di occlusione da trombosi acuta, per il modesto calibro dei vasi; 4) la percentuale di ristenosi è contenuta nelle occlusioni brevi, ma elevata nelle stenosi-occlusioni lunghe; 5) solo un preciso sistema laser guidato potrà consentire una somministrazione più sicura della radiazione, specie in vasi piccoli e tortuosi.

V. anche sopra: *laser in cardiochirurgia*, col. 4395.

**Bibliografia**


Abela G. S., Barbieri E., Conti C. R., *Laser Therapy in Cardiovascular Disease*, in Yu P. N., Goodwin J. F. eds., *Progress in Cardiology*, n. 15, 1987, Lea & Febiger, Philadelphia, pp. 155-168.

Barbieri E., Destro G., Perbellini A., Zardini P., *Cardiologia*, 1988, **33**, 233-239.

Barbieri E., Perbellini A., Scuro A. *et al.*, *Excimer Laser in the Treatment of Peripheral Artery Disease: Acute and Short Term Results*, 37th Annual Meeting American College of Angiology, 1990, Atlanta.

Cumberland D. C. *et al.*, *Lancet*, 1986, **1**, 1457.

Ginsburg R., Wexler L., Mitchell R. S., Profitt D., *Radiology*, 1985, **156**, 619-624.

Grüntzig A., Hopff H., *Dtsch. Med. Wochenschr.*, 1974, **99**, 2502.

Lammer J., Pilger E., Kleinert R., *J. Intervent. Radiol.*, 1988, **3**, 53-58.

Lee G., Ikeda R. M., Chan M. C. *et al.*, *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1985, **56**, 181-185.

Leon M. B., Geschwind H. J., *Fluorescence-guided Laser Assisted Balloon Angioplasty in Peripheral Vascular Disease. Transcatheter Cardiovascular Therapeutics*. In *New Device Development in Coronary Artery Disease, Peripheral Vascular Disease and Valvular Heart Disease*, 1988, Georgetown University.

Litvack F. *et al.*, *Circulation*, 1990, **81** (Suppl. IV), 109-116.

Nordstrom L. A. *et al.*, *Radiology*, 1988, **168**, 359-364.

Nuss R. C. *et al.*, *Lasers Surg. Med.*, 1988, **8**, 381-391.

Perbellini A., Barbieri E. *et al.*, *Vasc. Surgery*, 1989, **23**, 371.

Wildus D. M., Osterman F. A., *JAMA*, 1989, **261**, 3148-3154.

Yock P. G., Johnson E. L., David D. T., *Am. J. Cardiac. Imag.*, 1988, **2**, 185-193.


ENRICO BARBIERI

## LASER NELL'EMOFILIA

L'applicazione della tecnologia laser nell'area delle emorragie in soggetti con patologia congenita dei fattori plasmatici determinanti la coagulazione (emofilia A e B, angioemofilia, paraemofilia, etc.) si è sviluppata soltanto nell'ultimo decennio. Utilizzare le caratteristiche specifiche del laser (monocromaticità, coerenza, direzionalità, brillanza) per coagulare con estrema precisione un'area emorragipara di dimensioni minime — ma potenzialmente letale — negli emofilici significa evitare o limitare la somministrazione dei fattori plasmatici carenti in questi soggetti. Questo deficit congenito è caratteristico delle sindromi emorragiche ereditarie emofiliche; anche lesioni tegumentarie limitate sanguinano in modo incoercibile a meno che non si provveda alla immediata infusione e. v. dei fattori plasmatici carenti specifici di quel tipo di emofilia (fattore VIII per emofilia A, fattore IX per emofilia B, etc.); v. EMOFILIA*. Purtroppo gli emoderivati sono preparati da grandi *pool* plasmatici per cui sono veicoli potenziali di virus responsabili di epatopatie o della sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS).

In Israele, alla fine degli anni '70, si è utilizzato il laser per fotocoagulare aree sanguinanti cutanee, mucosali e intra-articolari in emofilici, limitando così il rischio da infusione di crioprecipitati plasmatici.

Fig. 63. Fotocoagulazione mediante laser ad argon di area emorragipara gengivale in emofilico A grave, trattato in *day hospital* e senza infusione del fattore plasmatico carente.

Tre tipi di laser vengono utilizzati nella chirurgia degli emofilici: il laser a $CO_2$, ad argon e a Nd:YAG.

Il laser a $CO_2$ è particolarmente utile nella chirurgia di elezione degli emofilici per la sua capacità di incidere i tessuti superficiali, coagulando le strutture vascolari di calibro non superiore a 0,5 mm.

Il laser ad argon trasmesso tramite fibra ottica può essere attivo anche in aree anatomiche di difficile accesso quali le cavità nasali oppure le aree gengivali. Queste ultime sono intensamente emorragipare negli emofilici specialmente nel passaggio dalla dentizione decidua a quella permanente (fig. 63).

Il raggio del laser a Nd:YAG, veicolato tramite fibra ottica, può essere usato in strutture cavitarie che contengono liquidi (ad es. nel cavo articolare del ginocchio, sempre compromesso nell'emofilico). Recentemente sono state sviluppate delle sonde per quest'ultimo tipo di laser in grado di realizzare una fotochirurgia di contatto; un microcristallo di zaffiro sintetico usato a diretto contatto con l'area sanguinante permette manipolazioni controllate insieme a un maggior controllo tattile utilizzando potenze non molto elevate.

La selezione degli emofilici per interventi di chirurgia laser, in elezione o in urgenza, prevede la seguente valutazione:

1) definire il tipo di emofilia e la sua gravità;

2) controllare la presenza di anticorpi verso i fattori della coagulazione, già precedentemente somministrati;

3) identificare e trattare le lesioni cutaneo-mucose che presentano sanguinamento per lesione di vasi che non superano il diametro di 0,5 mm.

Il paziente emofilico adeguatamente selezionato può essere trattato con il laser senza alcun bisogno di infusione di fattore carente limitando così, oltre al già citato rischio di malattie emotrasmissibili, la comparsa di anticorpi antifattore carente.

L'area irradiata viene tamponata con una soluzione an-





Digitized by Google

tifibrinolitica (da somministrare eventualmente anche per via sistemica) onde consentire una stabilizzazione del coagulo ottenuto con il laser e permettere una guarigione clinica sovrapponibile a quella ottenuta con altre tecniche e altri schemi terapeutici più impegnativi.

Il rapporto costo/beneficio nell'uso del laser negli emofilici si esprime non solo in vantaggio economico ma soprattutto in riduzione di rischio clinico per patologie indotte da emoderivati, in gruppi di emofilici adeguatamente selezionati in ambiente specialistico.

**Bibliografia**

Hornblass A., Herschorn B. J., *Am. J. Ophthalmol.*, 1983, **96**, 689.

Kaplan I., *Plast. Reconstr. Surg.*, 1982, **69**, 552.

Musajo Somma A., Ciavarella N. *et al.*, *Haemostasis*, 1981, **10** (1), 229.

Pratesi R., in Chester *et al.* eds., *Laser Science and Technology*, 1988, Plenum, New York, p. 259.

ALFREDO MUSAJO SOMMA

## LASER IN OTORINOLARINGOIATRIA E NELLA CHIRURGIA DELLA FARINGE

**Microchirurgia laringea**

Il laser a $CO_2$ costituisce uno strumento indispensabile nella moderna microchirurgia laringea; dai tempi delle prime sperimentazioni (Jako, 1968) a oggi, attraverso il contributo di Scuole chirurgiche di tutto il mondo (Boston, Massachussets, U.S.A.; Gröningen, Olanda; Göttingen, Germania Federale; Oporto, Portogallo; Parigi, Francia; Southampton, Inghilterra; Napoli, Italia), si sono precisate le modalità del suo impiego per il trattamento di vari processi patologici di competenza specialistica otorinolaringologica (Andrews e Moss, 1974; Jako, 1977; Healy *et al.*, 1978; Strong e Jako, 1972; Strong, 1976) ed inoltre sono stati prospettati in una serie di lavori più recenti nuovi e interessanti indirizzi circa le sue possibilità di applicazione (Dedo e Jackler, 1982; Motta *et al.*, 1984; Pais Clemente, 1978; Shugar *et al.*, 1982; Steiner *et al.*, 1980; Steiner, 1982; Jako e Fabiani, 1982; Hofler, 1982; Krajina, 1982).

Il laser a $CO_2$ consente di trattare chirurgicamente varie manifestazioni patologiche endolaringee attraverso le vie naturali (laringoscopia diretta in sospensione) sotto il controllo del microscopio operatorio; si ha così la possibilità di praticare l'exeresi del processo patologico con assoluta precisione, senza ledere le strutture sane e quindi senza provocare danni agli organi preposti alla fonazione o riducendo l'entità di questi danni al minimo indispensabile.

Il laser a $CO_2$ può essere impiegato nel trattamento dei seguenti processi patologici:

lesioni produttive benigne;
papillomatosi della laringe;
carcinomi del piano glottico;
carcinomi circoscritti del vestibolo laringeo;
paralisi bilaterali in adduzione delle corde vocali;
stenosi laringo-tracheali.

In passato sono stati utilizzati vari tipi di laser (ad argon; Nd:YAG); attualmente si preferisce usare per il trattamento chirurgico di queste patologie il laser a $CO_2$. La energia che questo laser è in grado di erogare è infatti nettamente superiore a quella fornita dal laser ad argon, per cui la relativa apparecchiatura può essere adottata anche per interventi più complessi (aritenoidectomie, cordectomie, etc.).

*Lesioni produttive benigne*

Si tratta in genere di manifestazioni patologiche che insorgono a seguito di sforzi o di abusi della voce; i danni da essi provocati possono essere aggravati da altri fattori (fumo, alcolici, fattori discrasici, etc.) che provocano uno stato di flogosi della mucosa laringea con conseguente edema e congestione locale.

Fra questi processi patologici ricorderemo:

i noduli vocali;
i polipi delle corde vocali;
gli edemi di Reinke o pseudoprolassi della mucosa dei ventricoli;
vanno anche segnalati alcuni processi neoformativi benigni di riscontro meno frequente (cisti, fibromi, etc.).

Per effettuare la loro exeresi possono essere adottate tre diverse tecniche chirurgiche (Motta *et al.*, 1984):

1) la vaporizzazione diretta: è impiegata in casi con noduli o piccoli polipi; la neoformazione laringea viene distrutta dall'azione diretta del raggio laser che agisce vaporizzando l'acqua contenuta nei tessuti;

2) la sezione del peduncolo d'impianto: è utilizzata per asportare neoformazioni polipoidi peduncolate;

3) lo scollamento sottomucoso della base d'impianto della neoformazione: con questa tecnica si procede alla escissione di voluminose formazioni polipoidi o di edemi di Reinke o di neoformazioni benigne a larga base d'impianto.

Nelle lesioni laringee di volume più modesto in genere il laser costituisce un'alternativa alle tecniche tradizionali, rispetto alle quali può presentare una precisione maggiore; in realtà in questi casi i suoi vantaggi sono opinabili e senza dubbio molto limitati.

Nei pazienti con polipi voluminosi o con edemi di Reinke l'assenza quasi assoluta di manifestazioni emorragiche durante l'intervento eseguito con il laser consente di attuare l'escissione più agevolmente e con maggiore precisione rispetto alle tecniche tradizionali che prevedono l'impiego di taglienti.

*Papillomatosi laringea*

Di più comune riscontro nell'infanzia, i papillomi della laringe sono neoformazioni pluricentriche ed esofitiche che, moltiplicandosi ed aumentando di volume, possono occupare interamente il lume laringeo, provocando talora crisi dispnoiche talmente gravi da richiedere la tracheotomia. I papillomi, che da un punto di vista etiopatogenetico sono in rapporto con un'infezione virale da papillomavirus (HPV; v. PAPOVAVIRUS), presentano una spiccata tendenza a recidivare, a volte anche per anni.

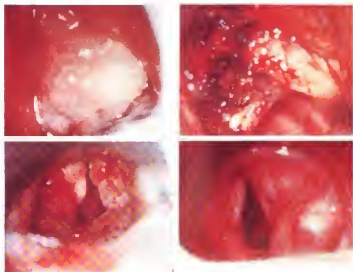
Il laser a $CO_2$, impiegato in microlaringoscopia diretta, consente di effettuare agevolmente la loro asportazione radicale senza praticamente dar luogo a manifestazioni emorragiche e con un edema reattivo della mucosa laringea molto ridotto. Fra i vantaggi più rilevanti di questa tecnica va segnalata la possibilità di evitare la tracheotomia, intervento che nelle forme patologiche in questione espone al rischio di favorire la diffusione del processo morboso alla trachea ed ai bronchi.

Le neoformazioni di piccole dimensioni vengono asportate mediante vaporizzazione diretta; le masse papillomatose voluminose invece sono escisse sezionandone il relativo peduncolo ovvero la base d'impianto.

Quando si eseguono interventi su aree estese della laringe i depositi di fibrina che si costituiscono nella sede delle neoformazioni asportate possono talora ridurre l'ampiezza del lume laringeo e dar luogo a disturbi respiratori nei primi giorni successivi all'operazione; in seguito, organizzandosi, potrebbero determinare la costituzione di aderenze o di sinechie, con conseguenti danni funzionali. È questa la ragione per la quale in taluni casi, nei quali i papillomi al momento dell'intervento interessino aree molto



Digitized by Google

Fig. 64. Papillomatosi laringea giovanile. *In alto, a sinistra*: voluminosi papillomi che si estendono ampiamente nel piano glottico. *In alto, a destra*: aspetto endoscopico della laringe al termine dell'intervento chirurgico. *In basso, a sinistra*: controllo a distanza di tre mesi: si nota la presenza di piccoli papillomi recidivati, che vengono vaporizzati con il laser. *In basso, a destra*: controllo endoscopico finale a distanza di un anno dal primo intervento: si nota la completa riepitelizzazione della mucosa e l'assenza di recidive.

estese della laringe, può rendersi necessario procedere, nei giorni che seguono l'intervento, a controlli in laringoscopia diretta onde allontanare la fibrina e prevenire gli inconvenienti segnalati.

Il trattamento chirurgico dei papillomi laringei con l'impiego del laser a $CO_2$, se consente di eseguire la loro exeresi con precisione e radicalità, non ne impedisce le recidive; è necessario quindi effettuare, in questi casi, controlli periodici, onde procedere tempestivamente all'asportazione delle neoformazioni recidivate per prevenire una loro proliferazione e per avere la possibilità di praticare interventi su zone limitate della laringe e quindi meno traumatizzanti (fig. 64).

*Carcinomi del piano glottico*

I carcinomi delle corde vocali costituiscono forme patologiche di riscontro piuttosto frequente; poiché danno luogo ad una sintomatologia evidente sin dalle fasi iniziali, attirano precocemente l'attenzione dei pazienti e possono essere diagnosticate tempestivamente.

Si ha così la possibilità di intervenire chirurgicamente per eseguire la loro exeresi con operazioni limitate (laringectomie parziali fronto-laterali, cordectomie semplici o allargate), poco invalidanti rispetto alla laringectomia totale, un intervento assai grave non solo per le difficoltà chirurgiche e per i rischi operatori ma principalmente per i danni funzionali che arreca.

L'introduzione del laser a $CO_2$ nella chirurgia endoscopica laringea ha permesso di eseguire gli stessi interventi attraverso le vie naturali evitando la tracheotomia e rispettando i criteri di rigorosa radicalità che si impongono nella chirurgia oncologica. Più precisamente questi interventi consentono di effettuare un'escissione completa del tumore con un adeguato margine di tessuto sano circostante.

Tali tecniche chirurgiche possono essere adottate, secondo gli indirizzi della nostra scuola (Motta *et al.*, 1984):

per l'asportazione di tumori che sono limitati ad una corda vocale vera (fig. 65), ovvero che oltre ad una corda interessano anche le regioni adiacenti (ventricolo di Morgagni, corda vocale falsa, commessura anteriore, corda vocale vera controlaterale) (fig. 66).

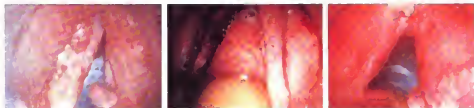



Fig. 65. Carcinoma della corda vocale di sinistra, esteso al ventricolo di Morgagni. *A sinistra*: visione endoscopica preoperatoria della lesione iniziale. *Al centro*: visione del campo operatorio al termine dell'intervento di cordectomia allargata. *A destra*: controllo a distanza di 18 mesi dall'intervento: si nota la perfetta riepitelizzazione della mucosa e l'assenza di recidive.





Digitized by Google

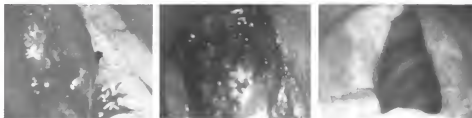



Fig. 66. Neoplasia della corda vocale vera di sinistra, estesa al ventricolo di Morgagni ed alla corda vocale falsa. *A sinistra*: aspetto endoscopico preoperatorio della lesione iniziale. *Al centro*: si asportano con l'impiego del laser la corda vocale di sinistra, la commessura anteriore ed il terzo anteriore della corda vocale controlaterale. *A destra*: controllo endoscopico a distanza di 2 anni: non sono presenti recidive.

Per poter impiegare tali tecniche è necessario però che la neoplasia non infiltri lo scheletro cartilagineo, non superi la membrana cricotiroidea e che non abbia dato adenopatie regionali metastatiche (tumori glottici T1 ovvero T2 N0 M0 secondo la classificazione dell'Union Internationale Contre le Cancer [UICC]);

per l'exeresi di carcinomi circoscritti del vestibolo laringeo, localizzati sul bordo superiore dell'epiglottide, sul bordo delle pieghe ari-epiglottiche o sulle corde vocali false, che non interessino la loggia io-tiro-epiglottica.

L'unico inconveniente delle tecniche descritte è rappresentato dalla possibile costituzione di granulazioni in corrispondenza delle zone in cui lo scheletro cartilagineo è stato privato del suo rivestimento pericondrale. Esse comunque possono essere agevolmente asportate in microlaringoscopia diretta e difficilmente recidivano.

Gli interventi chirurgici illustrati presentano i vantaggi seguenti:

alta percentuale di guarigione (che varia dal 92% per le forme cordali T1a all'85% per le forme T2);

decorso post-operatorio rapido (24-72 h di degenza);

trauma chirurgico limitato (si evita sempre la tracheotomia);

ottimi risultati funzionali.

*Paralisi bilaterale delle corde vocali in adduzione*

Le paralisi in adduzione delle corde vocali possono riconoscere patogenesi diverse; in genere però esse fanno seguito ad una lesione dei nervi ricorrenti nel corso di interventi chirurgici sulla ghiandola tiroide ovvero a traumi sulla regione cervicale. Vanno però segnalate anche le nevriti virali dei nervi ricorrenti e le lesioni a differente etiopatogenesi dei centri bulbari che regolano la motilità laringea (*paralisi di Gherardt*).

Qualunque sia la causa che le ha provocate, le paralisi laringee in adduzione determinano in genere un'intensa sintomatologia dispnoica che rende spesso necessaria l'esecuzione di una tracheotomia d'urgenza.

Il laser a $CO_2$ consente di eseguire interventi che, come quelli tradizionalmente praticati per via esterna (tecnica di Woodman de Graaf), hanno lo scopo di creare uno spazio respiratorio sufficientemente valido in corrispondenza della porzione posteriore della glottide. Con il laser questi interventi possono essere praticati attraverso le vie naturali e sotto il controllo del microscopio operatorio; essi consentono di eseguire un'aritenoidectomia totale, associata alla vaporizzazione del tratto posteriore della corda vocale vera omolaterale (Motta *et al.*, 1984) (fig. 67).

La tecnica illustrata presenta nei confronti delle metodiche tradizionali, i seguenti vantaggi:

è di facile esecuzione;

evita la tracheotomia;

assicura ottimi risultati, respiratori e fonatori.

Va rilevata comunque la possibilità che nei giorni immediatamente successivi all'intervento si formino, nella sede dell'aritenoide asportata, depositi di fibrina che riducono lo spazio respiratorio; per cui talora è necessario procedere ad una microlaringoscopia diretta per allontanare questa fibrina, onde risolvere i fenomeni di insufficienza respiratoria.

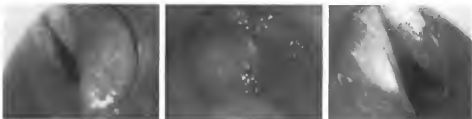



Fig. 67. Paralisi bilaterale delle corde vocali in seguito a chirurgia tiroidea. *A sinistra*: visione endoscopica preoperatoria della lesione iniziale. *Al centro*: visione del campo operatorio al termine dell'intervento di aritenoidectomia destra e della vaporizzazione del terzo posteriore della corda vocale omolaterale, eseguiti con il laser a $CO_2$. *A destra*: controllo del paziente a distanza di 1 anno dall'intervento: lo spazio respiratorio appare sufficientemente ampio.





Digitized by Google

*Stenosi croniche laringotracheali*

Le stenosi cicatriziali croniche laringotracheali rappresentano sempre delle forme patologiche di difficile risoluzione chirurgica, sia per la complessità degli interventi da eseguire, sia per i frequenti insuccessi che esse comportano. Le stenosi fanno in genere seguito ad eventi traumatici sulla regione cervicale, ma possono anche essere congenite (diaframmi glottici) o insorgere quale postumo di processi infettivi ovvero di interventi chirurgici.

Fino a pochi anni orsono esse richiedevano in genere interventi condotti dall'esterno; i processi patologici in cui potevano essere adottate operazioni endoscopiche erano percentualmente di numero molto limitato. Il laser a $CO_2$ ha consentito di intervenire in molte di queste forme patologiche per via endoscopica, rendendo più agevole il loro trattamento.

I risultati che possono essere ottenuti impiegando queste tecniche variano in relazione alle caratteristiche e alla localizzazione del processo patologico responsabile della stenosi. Più precisamente:

nelle stenosi dipendenti da edemi limitati o diffusi della mucosa, anche se estesi, i risultati sono sempre brillanti;

nelle forme cicatriziali circoscritte per ottenere la risoluzione del quadro clinico è necessario, dopo l'asportazione del tessuto neoformato con il laser, eseguire dei controlli periodici, più o meno frequenti, in laringoscopia diretta, per allontanare i depositi di fibrina, prevenirne l'organizzazione ed evitare le recidive (fig. 68);

nelle stenosi laringotracheali estese e complesse, gli interventi praticati con il laser, anche se appaiono di più semplice esecuzione in confronto a quelli attuati con tecniche tradizionali, comportano difficoltà e problemi non sempre di facile soluzione, e possono in un terzo circa dei casi essere seguiti da insuccesso.

In tali pazienti è anzitutto necessario studiare preventivamente con particolare cura, mediante opportune tecniche di indagine (esame radiografico e stratigrafico, TC, laringoscopia diretta, etc.) e valutare con attenzione le caratteristiche anatomopatologiche delle stenosi stesse per programmare l'intervento più idoneo.

In particolare va tenuto presente:

che le stenosi apparentemente limitate in altezza si pos-

Fig. 68. Stenosi cicatriziale delle corde vocali. *A sinistra*: estesa sinechia glottica che interessa i 2/3 anteriori delle corde vocali, insorta in seguito a chirurgia laringea per il trattamento di edema di Reinke (visione preoperatoria). *Al centro*: vaporizzazione della sinechia e rivestimento delle superfici con colla ciano-acrilica. *A destra*: controllo a distanza di 8 mesi dall'intervento: si apprezza la perfetta riepitelizzazione della mucosa e l'assenza di recidive della stenosi.

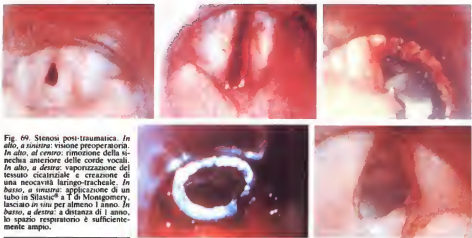



Fig. 69. Stenosi post-traumatica. *In alto, a sinistra*: visione preoperatoria. *In alto, al centro*: rimozione della sinechia anteriore delle corde vocali. *In alto, a destra*: vaporizzazione del tessuto cicatriziale e creazione di una neocavità laringo-tracheale. *In basso, a sinistra*: applicazione di un tubo in Silastic® a T di Montgomery, lasciato *in situ* per almeno 1 anno. *In basso, a destra*: a distanza di 1 anno, lo spazio respiratorio è sufficientemente ampio.





Digitized by Google

sono rivelare, nel corso dell'operazione, molto estese ed interessare un ampio tratto del tubo laringotracheale;

che i processi cicatriziali hanno notevole tendenza a recidivare anche a distanza di tempo dall'intervento;

che le manovre chirurgiche sulla commessura anteriore e su quella posteriore possono determinare la formazione di cicatrici retraenti e quindi causare un insuccesso.

In questi casi, dopo aver ricostituito con il laser a $CO_2$ il lume nel tratto stenosato, andrà inserito al suo interno un tubo in Silastic® che ne mantenga la pervietà, consentendo la guarigione ed evitando la costituzione di una recidiva cicatriziale. Questo tubo, che potrà avere dimensioni e morfologie differenti (in genere si impiegano i tubi a T di Montgomery), viene mantenuto *in situ* per vari mesi, sino alla guarigione, controllando con esami periodici l'andamento dei processi riparativi e intervenendo adeguatamente qualora si costituiscano delle granulazioni (fig. 69).

**Chirurgia del cavo orale e della faringe**

In letteratura numerosi AA. (Nishimura *et al.*, 1988; Oswal *et al.*, 1988; Lyons *et al.*, 1976; Strong *et al.*, 1979; Adams e Griebie, 1985) hanno riportato le loro esperienze sull'impiego del laser a $CO_2$ nell'esecuzione di interventi di tonsillectomia o di operazioni condotte per ottenere l'exeresi di processi patologici del cavo orale o della faringe (miomi, angiomi, etc.), sottolineando i vantaggi delle tecniche impiegate. Tali vantaggi riguardano:

l'attuazione dell'intervento che può essere condotto con un sanguinamento ridotto per l'emostasi eseguita dal raggio laser;

il decorso post-operatorio che sarebbe caratterizzato da limitati fenomeni reattivi locali (congestione, edema), da un'attenuazione del dolore e da una più rapida guarigione.

Questi dati della letteratura sono stati da noi sottoposti a verifica.

Ricorderemo brevemente come di recente sia stato proposto di intervenire sulle tonsille palatine impiegando il laser a $CO_2$; alcuni AA. si sono limitati a praticare asportazioni chirurgiche parziali della tonsilla, e cioè delle tonsillotomie; altri hanno eseguito delle tonsillectomie totali, talora anche con l'impiego del microscopio operatorio (Nishimura *et al.*, 1988).

In 10 casi noi abbiamo praticato la tonsillectomia da un lato con tecnica tradizionale (mediante taglienti o con il bisturi elettrico), dall'altro lato usando il laser a $CO_2$; ciò ha permesso di confrontare, nello stesso paziente, *i* vantaggi o gli svantaggi delle tecniche chirurgiche adottate e *in* particolare l'andamento del decorso post-operatorio e dei processi riparativi dei due lati.

Le nostre esperienze hanno messo in evidenza come il laser a $CO_2$ consenta di eseguire l'intervento di tonsillectomia con un sanguinamento ridotto in confronto a quello che si ha adottando lo scollamento con i comuni taglienti; il sanguinamento è però pressoché uguale a quello che si ha utilizzando il bisturi elettrico; va rilevato che il laser non è in grado di assicurare l'emostasi dei vasi di diametro maggiore: essi quindi debbono essere diatermocoagulati o suturati. Nei giorni successivi, dal lato operato con il laser a $CO_2$, il dolore è nettamente più intenso; inoltre la durata dei processi di cicatrizzazione da questo lato è più prolungata.

Siamo dunque contrari all'esecuzione degli interventi di tonsillectomia con il laser, proposta in letteratura da alcuni AA., o sulla opportunità di impiegare, in tali operazioni, attrezzature sofisticate, quali il microscopio operatorio. I nostri dati documentano in modo evidente come l'impiego del laser a $CO_2$, nell'esecuzione degli interventi di tonsillectomia, non solo non trova indicazione ma può addirittura comportare inconvenienti.

Tenuto conto di quanto abbiamo esposto, riteniamo che l'impiego del laser a $CO_2$ in genere non comporti rilevanti vantaggi nell'asportazione di lesioni estese della cavità orale o della faringe (Chiesa *et al.*, 1989): le stesse operazioni infatti possono essere praticate più rapidamente e più agevolmente con il bisturi elettrico o comunque con le tecniche tradizionali. Siamo quindi contrari all'impiego del laser a $CO_2$ nell'exeresi di estese neoplasie maligne di tali organi: in queste eventualità a nostro parere vanno infatti attuati interventi demolitivi basati sulle tecniche chirurgiche tradizionali. Queste ultime sono infatti in grado di assicurare l'exeresi radicale del processo patologico («compositive operations», «pull-through», svuotamenti linfonodali latero-cervicali).

**Chirurgia delle cavità nasali**

Anche l'uso del laser a $CO_2$ nel trattamento dei processi patologici delle cavità nasali, quali le poliposi o le atresie coanali, appare di discutibile interesse in quanto in questi casi le tecniche chirurgiche tradizionali permettono di attuare interventi più razionali e quindi di assicurare risultati migliori.

**Chirurgia dell'orecchio**

Numerosi AA. hanno proposto l'impiego del laser a $CO_2$ negli interventi per otosclerosi, al fine di effettuare la perforazione della platina della staffa. L'effetto termico del raggio laser sul labirinto comporta gravi rischi che non appaiono giustificati, tenuto conto del fatto che le tecniche tradizionali, ampiamente collaudate, consentono di ottenere ottimi risultati nella quasi assoluta totalità dei casi senza esporre i pazienti agli inconvenienti segnalati. L'impiego del laser in otologia non trova quindi alcuna applicazione.

**Bibliografia**

Adams G. L., Griebie M. S., *Minn. Med.*, 1985, **68** (4), 285-289.
Andrews A. H. jr., Moss H. W., *Ann. Otol.*, 1974, **83**, 462.
Chiesa F., Sala L., Costa L., Molinari R., *Il laser a $CO_2$ nell'oncologia cervico facciale*, in *Il laser di potenza - Applicazioni mediche*. Monografie Scientifiche del C.N.R., 1989, pp. 81-91.
Dedo H. H., Jackler R. K., *Ann. Otol.*, 1982, **91**, 425.
Healy G. B., McGill T., Strong M. S., *Pediatrics*, 1978, **61**, 380.
Hofler H., *Acta Otorhinolar. Ital.*, 1982, **2**, 107.
Jako G. J., *Transactions, Laser 1977*, 1977, Munch.
Jako G. J., Fabiani M., *Riv. Orl., Aud. Fon.*, 1982, **3**, 343.
Krajina Z., *Acta Otorhinolar. Ital.*, 1982, **2**, 99.
Lyons G. D., Lousteau R. J., Mouney D. F., *Annual Meeting of the American Laryngological, Rhinological and Otological Society*, Palm Beach, 28 April, 1976.
Motta G. *et al.*, *Il laser a $CO_2$ nella microchirurgia laringea*, 1984, Libreria Scientifica già Ghedini Ed., Milano.
Nishimura T. *et al.*, *Acta Otolaryngol. (Stockh)*, 1988, Suppl. 454, 313.
Oswal V. H., Kashima H. K., Flood L. M., *The $CO_2$ Laser in Otolaryngology and Head & Neck Surgery*, 1988, Wright.
Pais Clemente M. A., *Microcirurgia con laser na papilomatose respiratoria recurrente. Estudio clinico y experimental*, 1978, Oporto.
Shugar J. M. A., Som P. M., Biller H. F., *Laryngoscope*, 1982, **92**, 23.
Steiner W., Jaumann M. P., Pesch H. J., *Revue Therapeutique*, 1980, **37**, 1103.
Steiner W., *Acta Otorhinolar. Ital.*, 1982, **2**, 113.
Strong M. S., Jako G. J., *Ann. Otol.*, 1972, **81**, 791.
Strong M. S., *Ann. Otol.*, 1976, **85**, 508.
Strong M. S. *et al.*, *Transoral Resection of Cancer of the Oral Cavity: The Role of the $CO_2$ Laser*, in *Otolaryngologic Clinics of North America*, 1979, vol. 12, n. 1, February.
Strong M. S. *et al.*, *Laryngoscope*, 1979, **89**, 897.
Tucker H. M., *Use of the $CO_2$ Laser in Treating Lesions of the Mouth and Larynx*, 1989, The Cleveland Clinic, Cleveland.

GIOVANNI MOTTA, GAETANO MOTTA, GIUSEPPE RIPA, SERGIO TEDESCO E ROBERTO CUZZOCREA





Digitized by Google

## LASER NELLA PATOLOGIA E NELLA CHIRURGIA TESTA E COLLO

### Introduzione

L'impiego del laser è oggi assai comune nella pratica clinica laringoiatrica, e nella patologia del distretto cervico-maxillo-facciale. Esso è frutto di anni di studio e di ricerca, iniziati nel 1960 a Boston da Jako e Polany. Inizialmente era stato studiato ed utilizzato il laser a neodimio, con scarsi risultati; negli anni '70 con l'introduzione del laser a $CO_2$ le applicazioni cliniche si sono fatte più convincenti ed attualmente esso rappresenta una metodica chirurgica ritenuta necessaria in diverse patologie del cavo orale e laringeo (Parkin e Davis, 1986; De Weese *et al.*, 1988).

In questo capitolo verranno discussi indicazioni e risultati conseguiti con l'impiego del laser chirurgico a $CO_2$ nella patologia del distretto cervico-facciale.

#### Tecnica chirurgica

L'effetto calore determinato dall'impatto del raggio laser sui tessuti può essere sfruttato in chirurgia secondo due diverse modalità.

a) *Vaporizzazione*. – Consiste nella distruzione dei tessuti per necrosi coagulativa, strato per strato. È una procedura lenta, che non garantisce uniformità di trattamento delle lesioni e soprattutto non consente un riscontro istologico dei tessuti vaporizzati. Pertanto il suo impiego è sconsigliabile in oncologia.

b) *Exeresi*. – Il raggio laser viene utilizzato come un tagliente. Il suo impiego è più rapido; il controllo della profondità dell'escissione è continuo, soddisfacente ed assolutamente affidabile in microscopia. La capacità di coagulare vasi fino a 2 mm di diametro durante l'incisione consente di operare in campo esangue distinguendo, in ogni momento dell'intervento, il tessuto patologico da quello sano. È inoltre possibile l'esame istologico di tutto il pezzo operatorio.

Molti interventi sul cavo orale possono essere eseguiti in anestesia locale in regime ambulatoriale, mentre gli interventi laringei richiedono la narcosi.

### Indicazioni e risultati

La patologia comunemente trattata con questa metodica è molto varia e può comprendere lesioni non neoplastiche, precancerosi e neoplasie benigne e maligne.

In molti casi l'uso del laser si pone in alternativa a quello delle metodiche chirurgiche tradizionali senza tuttavia offrire sicuri vantaggi. In particolare ci riferiamo alle neoplasie benigne del cavo orale e della laringe, ove la scelta della metodica chirurgica viene fatta più in base alla disponibilità dell'attrezzatura che sulla scorta di un effettivo giudizio di utilità assoluta. Vantaggi sicuri si riscontrano nel trattamento delle ulcere croniche aspecifiche del cavo orale, delle papillomatosi laringee recidivanti, ma soprattutto delle lesioni preneoplastiche (leucoplachie ed eritroplasie) del cavo orale e laringeo. Infine la metodica laser è particolarmente utile nel trattamento di piccole neoplasie superficiali del cavo orale e del piano glottico.

Verranno discusse in dettaglio le indicazioni che offrono sicuri vantaggi nei confronti delle metodiche tradizionali ed esaminati i risultati segnalati in letteratura.

*Cavo orale*

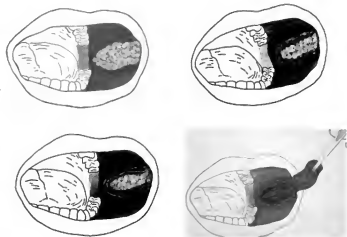
1. *Ulcere torpide*. – Queste lesioni, ad etiologia poco nota e non particolarmente frequenti, tendono a recidivare anche dopo terapie mediche prolungate o dopo interventi chirurgici di exeresi. Il laser a $CO_2$ sterilizza il campo operatorio, per l'elevato calore sviluppato dal raggio, rendendo più rapida e definitiva la cicatrizzazione. Questa indicazione è consigliata da molti AA. (cfr. Parkin e Davis, 1986; De Weese *et al.*, 1988) anche se in letteratura non esiste un confronto con le metodiche tradizionali.

2. *Precancerosi orali (in particolare leucoplachie)*. – È soprattutto in questa patologia che l'introduzione del laser ha rivoluzionato indicazioni e terapia. In precedenza ci si limitava o alla semplice osservazione nel tempo, ovvero alla loro elettrocoagulazione. In caso di successiva degenerazione, ciò comportava la necessità di ricoveri ospedalieri e di interventi spesso demolitivi. Studi epidemiologici eseguiti su varie popolazioni hanno evidenziato che le leucoplachie hanno una probabilità di degenerazione variabile dal 7 al 14%. L'exeresi sistematica delle leucoplachie (fig. 70) ha inoltre mostrato iniziale degenerazione nel 10% circa dei casi. Nella tab. VI sono riportati i risultati del controllo locale delle leucoplachie trattate con exeresi la-

Fig. 70. *In alto, a sinistra*: lesione della mucosa geniena da trattare: leucoplachia omogenea del terzo medio della mucosa geniena. *In alto, a destra*: delimitazione dell'area da asportare: il laser a $CO_2$ con una serie di singoli 'impulsi' a bassa potenza (8-10 W) delimita la superficie. *In basso, a sinistra*: exeresi, approfondimento dell'incisione dell'area delimitata in precedenza fino alla profondità voluta. *In basso, a destra*: asportazione della lesione, l'exeresi viene condotta in modo da asportare una «fetta» di tessuto con circa 0,5 cm di tessuto sano ai margini ed in profondità. Questo tessuto può essere valutato correttamente dal patologo per una conferma diagnostica della lesione (in precedenza già biopsiata) e per la valutazione della «radicalità» dell'intervento chirurgico; i margini, scarsamente danneggiati dal calore del laser, solo in minima parte assorbito dai tessuti asportati, possono essere valutati esaurientemente dal patologo. (*Disegni di Fulvia Nastasio*).





Digitized by Google

**TAB. VI. RISULTATI DEL TRATTAMENTO LASER DELLE LEUCOPLACHIE ORALI**

| Autore | N. casi trattati | Recidive % |
|---|---|---|
| Roodenberg (1983) | 58 | 6,9 |
| Frame (1984) | 48 | 10,0 |
| Frame (1985) | 75 | 2,7 |
| Chu (1988) | 38 | 10,8 |
| Chiesa (1990) | 140 | 19,3 |

**TAB. VII. RISULTATI A 3 ANNI DEL TRATTAMENTO DI CARCINOMI SPINOCELLULARI DEL CAVO ORALE**

| Autore | TNM | Controllo locale | Risultati % |
|---|---|---|---|
| Guerry (1983) | T1 | 28/33 | 85,0 |
| | T2 | 5/5 | 100,0 |
| | Rec | 9/18 | 50,0 |
| Nagorsky (1986) | T1-T3 | 11/12 | 91,7 |
| | Rec | 5/7 | 71,4 |
| Tradati (1990) | T1 | 32/35 | 91,4 |
| | Rec | 11/20 | 55,0 |

Rec = Recidive.

ser, desunti dalla letteratura. Essi sono comunque solo indicativi perché le casistiche non sono paragonabili per composizione e per *follow-up* (Chiesa *et al.*, 1986; 1990; Chu *et al.*, 1988).

3. *Carcinomi spinocellulari.* – Piccole neoplasie superficiali, ovvero recidive limitate, non infiltranti e ben accessibili, possono essere trattate con successo con una exeresi laser in regime ambulatoriale. Le segnalazioni in letteratura dei risultati oncologici ottenuti con questa metodica sono scarse (Nagorsky e Session, 1987), comunque i tumori non pretrattati sembrano meglio curabili rispetto a quelli, anche se di estensione limitata, recidivati ad altre terapie (tab. VII).

**TAB. VIII. RISULTATI A 3 ANNI DAL TRATTAMENTO DI CARCINOMI LARINGEI CON LASER A $CO_2$ IN LARINGOSCOPIA**

| Autore | TNM | NED | Risultati % |
|---|---|---|---|
| Vaughan* (1983) | T1 | 31/35 | 88,6 |
| Wetmore* (1986) | T1 | 17/21 | 80,9 |
| Hirano* (1988) | T1 | 4/5 | 80,0 |
| | T2 | 0/1 | |
| Hirano** (1988) | T1 | 7/17 | 41,2 |
| | T2 | 0/1 | |
| Chiesa* *et al.* | T1 | 5/6 | 83,3 |
| | Rec | 12/22 | 54,5 |
| Chiesa** *et al.* | Rec | 2/5 | 40,0 |

NED = controllo locale.
Rec = Recidive a pregresse terapie. * = Exeresi; ** = Vaporizzazione

*Laringe*

Le più frequenti applicazioni del laser a $CO_2$ si riscontrano comunque nella patologia laringea.

1. *Papillomatosi.* – Si tratta di lesioni benigne ad etiologia virale (HPV, v. PAPOVAVIRUS), che tendono a recidivare con elevata frequenza. L'impiego del laser, anche se non risolutivo, come del resto tutte le metodiche fino ad oggi utilizzate, consente di ottenere un allungamento dell'intervallo libero da malattia evitando tracheotomie debilitanti (Dallari *et al.*, 1987). Per più ampi particolari, v. sopra col. 4408.

2. *Stati precancerosi.* – Analogamente a quanto segnalato per la patologia preneoplastica orale, il trattamento delle precancerosi laringee acquista il significato di diagnosi precoce e di prevenzione. Esse sono sicuramente un'indicazione assoluta e concorrenziale nei confronti delle metodiche tradizionali (Parkin e Davis, 1986; De Weese *et al.*, 1988; Motta, 1984).

3. *Carcinomi.* – La letteratura, ricca di descrizioni di tecnica operatoria e di segnalazioni sui risultati immediati, è abbastanza scarsa per quanto riguarda i risultati oncologici (Motta, 1984; Vaugahn, 1983; Cinberg e Silver, 1981; Wetmore *et al.*, 1986; Krespi e Metzer, 1989). Nella tab. VIII sono riportate le guarigioni locali ottenute con la sola chirurgia laser. È necessaria una profonda conoscenza sia della oncologia che della patologia chirurgica laringea, in quanto gli interventi devono essere sempre condotti con criteri di radicalità. L'asportazione con laser della corda vocale per via endoscopica sotto controllo microscopico, in campo esangue, nella nostra esperienza può evitare almeno nel 50% dei casi una laringectomia totale senza pregiudicare le probabilità di guarigione definitiva.

In sintesi il laser a $CO_2$ può essere utilizzato vantaggiosamente in lesioni limitate (primitive o recidivate a radioterapia) del terzo medio della corda vocale, con motilità conservata, oppure del margine laringeo.

Per più ampie informazioni sull'impiego del laser in laringe, v. sopra col. 4407.

**Conclusioni**

Il vantaggio offerto dal laser è rappresentato:

a) dall'assenza di strumentazioni che possono ostacolare il chirurgo che opera in un campo angusto (ad es. nella laringe);

b) dalla precisione dell'exeresi consentita dalle peculiarità del raggio laser e dal campo esangue, soprattutto in microscopia operatoria.

In conclusione, pertanto, si può affermare che la chirurgia laser della patologia testa e collo è sicuramente utile ed efficace, *per patologie selezionate*, soprattutto in regime di *day hospital*.

**Bibliografia**

Chiesa F., Costa L., Moglia D. *et al.*, *Tumori*, 1986, **72**, 307.
Chiesa F., Tradati N., Sala L. *et al.*, *Arch. Otolaryng. Head Neck Surg.*, 1990, **116**, 177.
Chu F. W. K., Silverman S. jr., Dedo H. H., *Laryngoscope*, 1988, **98**, 125.
Cinberg J. R., Silver C. E., *Treatment of Laryngeal Tumors with the $CO_2$ Laser*, in Silver C. E. ed., *Surgery for Cancer of the Larynx and Related Structures*, 1981, Churchill Livingstone, New York, pp. 145-155.
Dallari S., Tradati N., Chiesa F., *Argomenti di Oncologia*, 1987, **8**, 381.
De Weese D. D., Saunders W. H., Schuller D. E., Scheenning II A. J., *Laser Surgery*, in *Otolaryngology - Head & Neck Surgery*, 1988, Mosby, S. Louis, pp. 283-289.
Krespi Y. P., Metzer C. J., *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 1989, **98**, 105.
Motta G., *Il laser a $CO_2$ nella microchirurgia laringea*, 1984, Libreria Scientifica già Ghedini Ed., Milano.



Digitized by Google

Nagorsky M., Session D. G., *Ann. Otol. Rhinol.*, 1987, **96**, 556.
Parkin J. F., Davis R. K., *Laser Surgery*, in Cummings C. W. *et al.* eds., *Otolaryngology - Head & Neck Surgery*, 1986, vol. 3, Mosby, S. Louis, pp. 2133-2141.
Vaughan C. W., *Otolaryngol. Clin. North Am.*, 1983, **16**, 849-864.
Wetmore S. J., Key J. M., Suen J. Y., *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 1986, **112**, 853.

FAUSTO CHIESA

## LASER IN GINECOLOGIA E NELL'APPARATO GENITALE MASCHILE

**Premessa**

Le applicazioni dei laser in campo ginecologico si suddividono in intra- ed extraddominali o del tratto genitale inferiore.

La chirurgia laser per lesioni intraddominali può essere effettuata sia ad addome aperto (laparotomia) sia per via endoscopica (laparoscopia).

Nelle lesioni del tratto genitale inferiore sia femminile che maschile viene utilizzata frequentemente la metodica microchirurgica che prevede l'impiego del laser associato al microscopio operatorio.

Nella tab. IX sono riportate le principali indicazioni all'impiego delle tecniche laser nelle lesioni dei vari distretti anatomici.

**Applicazioni ginecologiche intraddominali in laparotomia**

In questo campo di applicazioni dei laser sono compresi interventi di chirurgia riduttiva per masse tumorali pelviche mediante il laser a $CO_2$ e Nd:YAG, interventi di asportazione completa per neoformazioni minori e infine interventi di chirurgia ricostruttiva. Quando una completa rimozione di una massa tumorale sia tecnicamente impossibile, la riduzione chirurgica del volume della stessa può rendere il tumore più responsivo al trattamento combinato (radiante o chemioterapico).

Lesioni tumorali benigne, quali miomi uterini, possono essere asportate con il laser a $CO_2$. I piccoli miomi possono essere completamente vaporizzati, miomi con diametro maggiore di 1,5-2 cm vengono preferibilmente escissi. Le incisioni eseguite con il laser comportano un sanguinamento sensibilmente inferiore a quello riscontrato con la chirurgia tradizionale e una quota minore di complicazioni.

Nell'ambito chirurgico ricostruttivo possono essere eseguiti con vantaggio interventi in sede uterina e tubarica. Per il trattamento chirurgico dell'utero bicorne e dell'utero setto sono effettuabili metroplastiche con laser a $CO_2$ a 35 W di potenza, incidendo la parete uterina, ricostruendo la cavità endometriale, indi suturando le stesse pareti a strati.

I risultati di questi interventi evidenziano una maggiore conservazione di tessuto sano ed una minore quota di perdite ematiche fino al 30% rispetto alla chirurgia tradizionale (McLaughlin, 1985).

Fig. 71. Fase intermedia dell'intervento di reimpianto tubarico nel corno uterino, dopo incisione dello strato sieroso della tuba e *drill* in utero, entrambi eseguiti per via laparotomica con tecnica microchirurgica laser a $CO_2$.

La chirurgia tubarica rappresenta una tra le più interessanti aree di applicazione del laser in campo ginecologico. Previa opportuna selezione preoperatoria, il laser a $CO_2$ può essere utilizzato in associazione al microscopio operatorio per effettuare interventi di lisi delle aderenze pelviche o tubariche, fimbrioplastica e salpingostomia, rianastomosi tubarica (fig. 71), riposizione di fimbria ovarica, rimozione di gravidanza ectopica o di endometriosi tubarica.

La potenza del laser a $CO_2$ usata negli interventi di microchirurgia tubarica è usualmente compresa tra 65 e 100 W con *spot* di luce di diametro molto ridotto. Un sistema integrato per videoregistrazione e un'adatta strumentazione accessoria microchirurgica possono essere d'aiuto per questi interventi in cui è indispensabile una specifica esperienza e manualità operativa.

I risultati dopo chirurgia tubarica eseguita con laser riportano una riduzione del sanguinamento, del danno termico e conseguentemente delle *aderenze* postoperatorie che condizionano il successo dell'intervento, in termini di fertilità delle pazienti (Bellina, 1984).

**Applicazioni ginecologiche intraddominali endoscopiche**

Notevole sviluppo delle metodiche endoscopiche laser si è verificato negli ultimi anni soprattutto in centri americani ed israeliani. La visione diretta consentita dallo strumento endoscopico rigido o la visione tramite fibre ottiche della strumentazione flessibile facilitano il raggiungimento della cavità peritoneale o uterina per il trattamento di numerose lesioni.

**TAB. IX. APPLICAZIONI DEI LASER IN CHIRURGIA GINECOLOGICA E DELL'APPARATO GENITALE INFERIORE**

| Distretti anatomici | Tecniche | Strumentazione laser | Interventi |
|---|---|---|---|
| *Intraddominale* (cavo peritoneale, tube, utero) | Chirurgia a cielo aperto con o senza microscopio | $CO_2$; Nd:YAG | Adesiolisi<br>Rimozione di endometriosi<br>Metroplastica<br>Miomectomia<br>Tuboplastica e disostruzione tubarica<br>Rimozione legamenti uterosacrali<br>Asportazione endometriale |
| | Chirurgia endoscopica (laparo/isteroscopica) | Nd:YAG; $CO_2$; Ar | |
| *Tratto genitale inferiore* (cervice uterina, vagina, vulva, pene) | Chirurgia con microscopio operatorio | $CO_2$ | Vaporizzazione di condilomatosi<br>Resezione di displasie, carcinomi *in situ* e carcinomi inizialmente invasivi o recidive neoplastiche |

Digitized by Google

Sulla base della sede dell'intervento e della strumentazione endoscopica usata si distinguono applicazioni di tipo laparoscopico ed isteroscopico.

Le indicazioni all'impiego laparoscopico del laser a $CO_2$ sono costituite da: *a*) lisi di aderenze pelviche di limitata estensione; *b*) vaporizzazione di endometriosi (Nehzat *et al.*, 1986); c) interventi di chirurgia tubarica quali salpingostomia terminale o salpingotomia lineare per la rimozione di gravidanza tubarica; *d*) vaporizzazione di piccoli fibromi uterini; *e*) rimozione dei legamenti uterosacrali in casi di algie pelviche persistenti (Feste, 1984).

Per il trattamento distruttivo di localizzazioni endometriosiche endoaddominali possono essere impiegati laser a $CO_2$, ad argon e Nd:YAG con particolare efficacia.

I laparoscopi laser possono essere a singolo o doppio punto d'accesso in addome, sono muniti di sistemi di aspirazione dei gas e dei fumi e di dispositivi di protezione per facilitare la procedura operativa. Il raggio guida percorre lo stesso canale operativo del laser chirurgico e ne indica l'esatta focalizzazione per rendere preciso il trattamento endoscopico.

La salpingostomia terminale e la salpingotomia vengono eseguite con il laser a $CO_2$ sulla parete tubarica usualmente senza notevole sanguinamento (Tadir *et al.*, 1981).

L'uso del laparoscopio-laser richiede un particolare addestramento; pertanto può essere d'aiuto l'impiego di sistemi integrati di controllo visivo quali il video-laser-scopio.

Le applicazioni isteroscopiche del laser sono costituite dall'asportazione endometriale e dalle metroplastiche minori (Goldrath, 1985). L'asportazione endometriale, indicata per le metrorragie disfunzionali in alternativa all'isterectomia, può essere eseguita per via isteroscopica, previa dilatazione del canale cervicale. Con irrigazione costante della cavità uterina può essere visualizzato e asportato lo strato di tessuto endometriale tramite irraggiamento con laser Nd:YAG in fibra ottica alla potenza media di 50 W. La punta della fibra viene spostata longitudinalmente in stretta vicinanza della superficie endometriale fino al completo trattamento della cavità.

Le metroplastiche minori effettuabili per via isteroscopica sono costituite dalla rimozione di setti e sinechie endocavitarie. Per questo scopo vengono utilizzati i laser a $CO_2$ e Nd:YAG con l'ausilio di forbici endoscopiche. Il metodo è risultato di particolare sicurezza e semplicità operativa con percentuali di successi comparabili ai metodi tradizionali (Tadir *et al.*, 1981).

L'aumento progressivo del numero di trattamenti laser endoscopici sia in laparoscopia che in isteroscopia eseguiti per la correzione di differenti forme patologiche intraddominali e intrauterine, il breve periodo di ospedalizzazione richiesto e la frequenza di procedure ambulatoriali indicano l'importante ruolo del laser nella chirurgia ginecologica. In questo campo gli sviluppi della ricerca e dell'industria sono in rapida e continua espansione e consentono una previsione di ulteriori miglioramenti tecnici.

**Applicazioni nella patologia del tratto genitale inferiore**

La patologia del tratto genitale inferiore femminile (comprendente la cervice uterina, la vagina e la vulva) e maschile (pene) costituisce un frequente campo di applicazione chirurgica del laser. Ciò a causa sia dell'elevata incidenza di lesioni in questi distretti anatomici sia dei vantaggi pratici derivanti dall'uso chirurgico (Emanuelli *et al.*, 1984) della strumentazione laser negli stessi distretti. Trattandosi di sedi superficiali (o accessibili in colposcopia) la strumentazione laser più idonea è costituita dal laser a $CO_2$ in associazione al microscopio operatorio. Tale associazione, mediante particolari accessori utili per ottenere la coassialità e la micromanipolazione del raggio a diverse distanze focali, ha ulteriormente migliorato la versatilità delle possibili applicazioni ed aumentato il grado di precisione e sicurezza negli interventi. La particolarità consiste nel fatto che oltre ad ottenere l'ingrandimento del campo chirurgico in superficie, facilitando così la definizione dei bordi della lesione, si ottengono informazioni intraoperatorie costanti sui successivi piani incisi o vaporizzati in profondità, in un campo mantenuto nitido per il controllo in tempo reale dell'emostasi dovuto al laser, fino alla precisa rimozione dell'intero volume del tessuto patologico.

Con la metodica microchirurgica sono effettuabili interventi sia di tipo distruttivo (vaporizzazione delle lesioni) che escissionale (ossia resezione dell'area patologica con ottenimento del campione chirurgico per l'esame istologico definitivo). Gli organi in cui sono eseguibili i citati interventi sono costituiti dalla cervice, vagina e vulva e dal pene.

*Cervice uterina*

Le lesioni cervicali possono essere trattate con il metodo distruttivo o escissionale a seconda del tipo e della distribuzione topografica. Il trattamento laser delle lesioni cervicali viene solitamente eseguito in colposcopia, ambulatoriamente e senza anestesia generale. Il metodo distruttivo

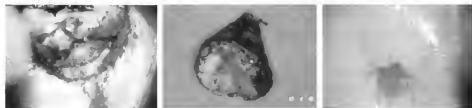



Fig. 72. *A sinistra*: immagine intraoperatoria in un tempo intermedio dell'intervento di conizzazione della cervice uterina per carcinoma *in situ* esteso al canale cervicale. La resezione viene eseguita con laser a $CO_2$ in associazione al microscopio operatorio, con l'aiuto di uno strumento divaricatore per ottenere l'appropriata direzione dell'incisione. L'intero intervento ha una durata media di circa 15 min, comporta un quasi assente sanguinamento e pertanto può essere eseguito in regime ambulatoriale o in *day-hospital*. *Al centro*: campione chirurgico di cono cervicale di dimensioni 24 × 24 mm ottenuto con tecnica laser. *A destra*: aspetto della cervice uterina a 1 mese dall'intervento di conizzazione laser. Dopo la resezione del cono non è stata effettuata la plastica cervicale. La riepitelizzazione è avvenuta per seconda intenziune senza complicanze postoperatorie. La giunzione squamocilindrica risulta interamente visibile senza evidenza di stenosi.





Digitized by Google

viene utilizzato per le infezioni da papillomavirus e le ectopie. Il metodo escissionale (conizzazione) è indicato per le lesioni di tipo displastico (CIN: *Cervical Intraepithelial Neoplasia*; v. UTERO, XV, 1457) estese al canale cervicale.

Il trattamento distruttivo indicato nelle lesioni displastiche interamente esocervicali, solitamente viene esteso fino a 5-6 mm di profondità per comprendere la base delle cripte ghiandolari. La potenza utilizzata è di circa 30 W con diametro dello *spot* di luce di 1-1,5 mm, alla distanza di 200-300 mm (Bellina e Bandieramonte, 1984). La metodica laser conduce generalmente alla minima fibrosi e a ridotta retrazione cicatriziale, con scarso rischio di stenosi.

Per la maggiore precisione e la possibilità di adattamento individuale della distruzione di tessuto patologico in profondità ed in estensione (specie per lesioni estese ai fornici vaginali), la tecnica laser viene oggi considerata più efficace, per quanto riguarda la percentuale di recidive di malattia, rispetto ai trattamenti distruttivi tradizionali.

La conizzazione cervicale (fig. 72) eseguita con laser richiede potenze più elevate (fino a 50 W) e *spot* di luce variabili da 2 a 0,5 mm. Per la trascurabile incidenza di emorragie intra- e postoperatorie non sono necessarie suture laterali dei vasi cervicali discendenti, nè la ricostruzione plastica della cervice dopo escissione del cono (Dorsey e Diggs, 1979). La rarità di stenosi e ancor meno di incontinenza cervicale segnalate dopo conizzazione laser rendono tale intervento maggiormente sicuro per la conservazione della integrità anatomica e funzionale e conseguentemente per la fertilità. Interventi di conizzazione laser individualizzata, eseguita sotto controllo microscopico, con l'altezza del cono correlata con l'estensione della lesione, e associando il trattamento distruttivo alla periferia della lesione in esocervice (Baggish e Dorsey, 1985), possono costituire misure terapeutiche definitive, previa verifica della radicalità all'apice del cono, per la grande maggioranza delle pazienti.

*Vagina*

Lesioni vaginali di tipo virale (condilomi) o displastico (VAIN: *Vaginal Intraepithelial Neoplasia*; v. VAGINA, XV, 1608) possono essere trattate vantaggiosamente mediante l'impiego del laser a $CO_2$. Quest'ultimo consente di operare in un campo ristretto, riduce od elimina il sanguinamento intraoperatorio e facilita l'asportazione di lesioni situate sulle pareti vaginali laterali e sui fornici, per la possibilità di orientazione multidirezionale del raggio (Townsend *et al.*, 1982). La microchirurgia laser, associandosi in tempo reale ad un'accurata informazione diagnostica intraoperatoria, risulta di particolare utilità per il trattamento di lesioni a sedi circoscritte singole o multiple, situate anche sul fondo vaginale in pazienti isterectomizzate. La regione imenale può rappresentare una sede a rischio di retrazione e pertanto richiede particolare attenzione specialmente quando è indicato un trattamento distruttivo esteso a gran parte della sua superficie.

La maggioranza degli interventi nei 3/4 superiori della vagina possono essere effettuati senza anestesia o con somministrazione *spray* dell'anestetico.

Potenze di uscita comprese tra 15 e 25 W, con *spot* di luce di 0,5-1 mm sono usualmente utilizzate per la rimozione di lesioni vaginali. Per escindere lesioni superficiali si procede alla delimitazione dei bordi delle stesse, ed alla trazione dei bordi sollevati con opportuni divaricatori per l'incisione alla base, alla profondità non superiore a 2 mm. Il processo di riepitelizzazione dopo l'intervento di exeresi o vaporizzazione laser avviene per seconda intenzione in una durata di circa 4-5 settimane.

*Vulva*

Lesioni vulvari, quali malattie virali (condilomi), processi distrofici, carcinomi *in situ* o inizialmente invasivi primitivi e recidive neoplastiche dopo vulvectomia, possono essere trattati con chirurgia laser con una scarsa quota di complicazioni intra- e postoperatorie ed un migliore risultato estetico. Nelle lesioni circoscritte, gli interventi chirurgici laser di tipo distruttivo o escissionale, vengono eseguiti ambulatoriamente e in anestesia locale. Quando la lesione si estende a tutta o a gran parte della regione vulvare, è preferibile frazionare il trattamento in due tempi o procedere all'anestesia generale in ricovero. La strumentazione laser viene convenientemente associata al microscopio operatorio.

I condilomi possono ampiamente interessare gli organi genitali del tratto inferiore (cervice, vagina, vulva) ed aree extragenitali, variando grandemente nella loro estensione e caratteristiche clinico-biologiche. Per queste lesioni, metodiche distruttive precise, quali la vaporizzazione laser, eventualmente associate a trattamento di tipo medico (interferone, chemioterapici ad uso topico) hanno dato risultati favorevoli anche nei casi refrattari a trattamenti precedenti. Il metodo distruttivo viene impiegato per la rimozione di localizzazioni condilomatosiche multifocali, vaporizzando superficialmente il tessuto fino al piano della membrana basale epiteliale (Reid, 1985).

Le distrofie vulvari, ossia quei disordini del trofismo connettivale, associate ad alterazioni epiteliali, comportano una rilevante sintomatologia soggettiva costituita dal prurito locale, spesso intollerabile. Sino ad oggi la maggioranza delle terapie raccomandate per questi casi sono risultate di scarsa efficacia nel controllo della malattia, quindi sono spesso indicati trattamenti di grave impegno per la paziente quali radioterapia o perfino la vulvectomia totale.

Il carcinoma *in situ* è una malattia attualmente più frequente ed insorge più precocemente rispetto al passato, specie in associazione ad infezione da papillomavirus. Data l'origine multifocale, riconosciuta per queste lesioni, è spesso necessario un accertamento bioptico esteso.

Lesioni di tipo distrofico con atipie epiteliali, displasie di vario grado e carcinomi *in situ* (VIN: *Vulvar Intraepithelial Neoplasia*) possono essere asportate mediante resezione laser microchirurgica (Leuchter *et al.*, 1984), fino alla profondità del piano dermico papillare o reticolare.

Per quanto riguarda il carcinoma invasivo della vulva, in una percentuale di casi non trascurabile la vulvectomia totale con linfoadenectomia regionale non è praticabile a causa dell'età avanzata delle pazienti e per la frequente patologia associata (cardiopatia, diabete, ipertensione); pertanto alla chirurgia radicale è necessario sostituire una chirurgia meno traumatica.

Per analoghe motivazioni, particolari vantaggi emergono infine dal trattamento mediante chirurgia laser escissionale di pazienti affette da recidiva locale neoplastica, anche se precedentemente sottoposte ad elettrocoagulazione o terapia radiante. Un beneficio socioeconomico non trascurabile deriva dalla possibilità di trattamento ambulatoriale di queste pazienti.

*Pene*

Il trattamento tradizionale delle lesioni superficiali del pene è gravato da una serie di inconvenienti. Infatti: 1) la chirurgia con bisturi per l'escissione di lesioni del glande e del solco comporta un cospicuo sanguinamento per l'elevata vascolarizzazione; 2) l'impiego estensivo della diatermia conduce ad eccessiva necrosi coagulativa, con conseguente fibrosi cicatriziale e danno funzionale permanente; 3) altri





Digitized by Google

Fig. 73. *In alto*: foto intraoperatoria durante l'intervento di resezione totale della superficie del glande per carcinoma spinocellulare dopo trattamento chemioterapico sistemico neoadiuvante. Lo scollamento del tessuto viene eseguito con laser a $CO_2$ e microscopio operatorio. L'emostasi ottenuta in tempo reale durante l'incisione con laser è soddisfacente fino alla profondità di circa 2-2.5 mm. La riepitelizzazione avviene per seconda intenzione nel corso di 6-8 settimane con ripristino anatomico e funzionale soddisfacenti. *In basso*: il campione chirurgico della resezione completa eseguita con laser ha usualmente uno spessore di 2-2,5 mm. Entro questi limiti possono essere asportate lesioni quali carcinomi *in situ*, inizialmente invasivi, o residui neoplastici dopo trattamento chemioterapico sistemico induttivo. L'accertamento istologico della diagnosi e della radicalità dell'intervento sull'intera lesione consente di procedere ad eventuali ulteriori provvedimenti terapeutici.

presidi, quali l'applicazione locale di chemioterapici, la crioterapia, l'infissione di aghi radioattivi o la distruzione locale mediante coagulazione con laser Nd:YAG, non permettono una valutazione istopatologica dell'intera lesione, e delle sue implicazioni prognostiche, e infine non assicurano generalmente un risultato accettabile sul piano anatomico e funzionale.

Lo strumento laser impiegato per il taglio e la coagulazione di vasi linfatici ed ematici di piccolo calibro in tempo reale, offre la possibilità di effettuare circoncisioni e resezioni della superficie del pene (in particolare del glande e del solco), di consentire la lettura istologica del campione chirurgico asportato e di costituire una precisa modalità terapeutica conservativa con la possibilità di essere localmente definitiva quando la resezione sia risultata radicale (Bandieramonte *et al.*, 1987).

Il laser a $CO_2$ viene impiegato alla potenza di uscita di 15-20 W in emissione continua per le lesioni prepuziali e con temporizzazione dell'impulso (1/15-1/30 sec) per lesioni del glande e del solco, in uno *spot* di luce di circa 1 mm alla distanza focale del microscopio operatorio di 200 mm.

Le lesioni displastiche e i carcinomi *in situ* (PIN: *Penile Intraepithelial Neoplasia*) o inizialmente invasivi costituiscono le indicazioni principali all'intervento di resezione superficiale microchirurgica eseguibile con il laser a $CO_2$ ambulatoriamente in anestesia locale. Recenti ricerche hanno evidenziato la possibilità di impiego della citata metodica nel trattamento di carcinomi vegetanti e scarsamente infiltranti del glande e del solco, in casi selezionati, responsivi al trattamento polichemioterapico preoperatorio a scopo induttivo o neoadiuvante. La resezione della base d'impianto delle lesioni neoplastiche responsive può essere estesa fino a comprendere lo scollamento dell'intera superficie del glande (fig. 73), del solco e del meato uretrale. Indicazioni specifiche a questo tipo di intervento sono costituite anche dalla presenza di lesioni displastiche multiple o estese linearmente a più di metà della circonferenza dell'organo.

La profondità di resezione compatibile con le possibilità della metodica laser microchirurgica conservativa è di circa 2,5 mm escluso lo strato di danno termico. L'area trattata viene lasciata guarire per seconda intenzione. La tollerabilità del paziente è elevata e la guarigione locale è ottima sul piano anatomico e funzionale per il minimo danno al tessuto sano adiacente.

**Conclusioni**

In definitiva, l'apporto innovativo della chirurgia laser in campo ginecologico e genitale maschile è attualmente riconducibile a:

1) aumentata scelta di possibilità chirurgiche nell'ambito di indicazioni circoscritte;

2) aumento della precisione operativa mediante l'associazione del laser alla strumentazione endoscopica o al microscopio operatorio. Le informazioni diagnostiche intraoperatorie, anche in aree ristrette e difficilmente raggiungibili, vengono mantenute costantemente in un campo nitido per il controllo dell'emostasi, fino alla precisa rimozione del volume geometricamente definito di tessuto patologico;

3) semplificazione tecnica: nonostante la necessità di protezione e di adattamento alle regole per il controllo dei parametri fisici ed ottici della strumentazione, la tecnica risulta globalmente semplificata per i seguenti motivi: *a*) lo strumentario tradizionale viene raramente richiesto; *b*) per ottenere l'emostasi non sono usualmente richieste legature od elettrocoagulazione; *c*) le suture chirurgiche per la sintesi di piani tessutali non sono necessarie, e la ferita può essere lasciata guarire per seconda intenzione. Nei casi a corretta indicazione, ciò conduce ad una riduzione dei tempi operatori;

4) risparmio economico; a parte il costo elevato iniziale delle apparecchiature, un risparmio globale della spesa sanitaria è riferibile a: *a*) ridotta necessità di cure postoperatorie (analgesici, medicazioni locali, rimozione di punti di sutura); *b*) ridotta quota di complicazioni postoperatorie precoci (sanguinamento delle ferite, infezione, deiscenze) e tardive (retrazioni cicatriziali deturpanti, con richiesta di correzione plastica); *c*) incremento della quota di interventi effettuabili su base ambulatoriale, senza la necessità di ricovero ospedaliero ed anestesia generale, con rapida ripresa dell'attività lavorativa.

**Bibliografia**

Baggish M. S., Dorsey J. H., *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1985, **151**, 23.





Digitized by Google

Bandieramonte G., Lepera P., Marchesini R. *et al.*, *J. Urol.*, 1987, **138**, 315.
Bellina J. H., *Infertility Surgery and the Laser*, in Kistner R. W., Patton G. W. eds., *Atlas of Infertility Surgery*, 2 ed., 1984, Little Brown, Boston, p. 187.
Bellina J. H., Bandieramonte G., *Principles and Practice of Gynecologic Laser Surgery*, 1984, Plenum Press, New York.
Dorsey J. H., Diggs E. S., *Obstet. Gynecol.*, 1979, **54**, 565.
Emanuelli H., Bandieramonte G., Andreola S., *L'impiego del laser in chirurgia. Annuario Enciclopedia Scienza e Tecnica (EST)*, 1984, Mondadori, Verona, p. 280.
Feste J. R., *Lasers Surg. Med.*, 1984, **3**, 327.
Goldrath M. H., *Hysteroscopic Laser Surgery*, in Baggish M. S. ed., *Basic and Advanced Laser Surgery in Gynecology*, Appleton, Norwalk, p. 357.
Leuchter R. S., Townsend D. E., Hacker N. F. *et al.*, *Gynecol. Oncol.*, 1984, **19**, 314.
McLaughlin D. S., *J. Reprod. Med.*, 1985, **30**, 1.
Nehzat C., Crowgey S. R. *et al.*, *Fertil. Steril.*, 1986, **45**, 778.
Reid R., *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1985, **151**, 1047.
Tadir Y., Kaplan I. *et al.*, *Laparoscopic Application of $CO_2$-Laser*, in Atsumi K., Nimsakul N. eds., *Laser Tokyo 81*, 1981, Intergroup Corp., Tokyo, p. 13.
Townsend D., Levine R. U., Crum C. P. *et al.*, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1982, **143**, 565.

GAETANO BANDIERAMONTE

## LASER IN UROLOGIA

### Introduzione

L'uso del laser in campo medico è ancora in una fase iniziale, tuttavia ha già dimostrato di presentare, in alcune branche specialistiche, reali vantaggi nei confronti delle terapie convenzionali offrendo talora nuove possibilità terapeutiche. In campo urologico le esperienze cliniche con il laser sono alquanto limitate, ma i risultati iniziali sono piuttosto incoraggianti, anche se necessitano di ulteriori verifiche.

I tipi di laser comunemente impiegati in campo urologico sono il laser a $CO_2$, ad argon e il Nd:YAG; questi presentano caratteristiche differenti come trasmissibilità in fibra, frequenza di emissione e conseguente tipo di interazione radiazione-tessuto.

Il laser a $CO_2$ è stato il primo impiegato nella chirurgia urologica, ma la sua scarsa penetrabilità nei tessuti (0,1 mm) e la impossibilità di convogliarlo su fibre ottiche ne ha limitato l'uso solo alle lesioni superficiali dei genitali esterni (condilomatosi, eritroplasia di Queyrat, trattamento palliativo dei tumori del pene). L'emostasi è eccellente e la cicatrizzazione del tessuto trattato avviene con un minimo danno estetico e questo costituisce un indiscutibile vantaggio rispetto alle terapie tradizionali.

Più versatili sono il laser ad argon e il laser Nd:YAG perché applicabili a strumenti endoscopici. Il laser ad argon, che presenta una scarsa penetrabilità nei tessuti (circa 1 mm), per la sua peculiare caratteristica di essere assorbito dall'emoglobina, è risultato particolarmente idoneo nel trattamento delle forme angiomatose dei genitali. Il laser Nd:YAG è quello che attualmente riscuote i maggiori consensi perché il fascio può essere convogliato su fibre ottiche anche di piccole dimensioni (200 μm) che ne consentono il passaggio attraverso i sistemi endoscopici. La sua energia non è rapidamente assorbita dai tessuti, come per i laser a $CO_2$ e ad argon, e ha una penetrazione di 4-5 mm anche dopo aver attraversato l'acqua. Inoltre con laser Nd:YAG si può ottenere sia la fotocoagulazione che la vaporizzazione dei tessuti e questi effetti possono essere utilizzati a seconda della necessità terapeutica.

Le potenze normalmente impiegate sono di circa 20 W quando si vuole ottenere la fotocoagulazione e di 23-24 W per la vaporizzazione. Qualora all'estremità della fibra venga applicata una punta in zaffiro, le potenze impiegate devono essere ridotte di circa un terzo. In questa evenienza, il laser provoca un effetto termico molto localizzato.

### Vescica

L'impiego clinico più diffuso del laser Nd:YAG in urologia è quello del trattamento endoscopico dei tumori a cellule di transizione della vescica. I primi studi si devono a Hofstetter e Frank (1983) e a Staelher *et al.* (1985) che dimostrarono la possibilità di ottenere con il laser Nd:YAG la coagulazione a tutto spessore della parete vescicale in forma lineare e con margini netti. Questo effetto è completamente diverso da quello della necrosi termica dovuta al bisturi elettrico che è irregolare e non altrettanto accuratamente prevedibile. Inoltre con l'energia comunemente impiegata (potenza di 40 W e durata di impulso di 2 sec) la temperatura della superficie esterna della vescica non supera i 60 °C, temperatura critica a cui si verifica la denaturazione delle proteine. Questo rappresenta un indubbio elemento di sicurezza che riduce sia il rischio di perforare la parete vescicale sia quello ben più temibile di arrecare

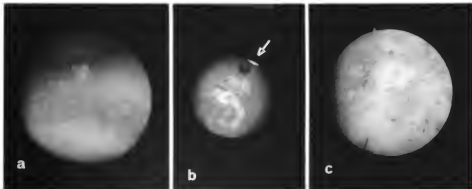



Fig. 74. *a*) Quadro cistoscopico di neoformazione peduncolata della parete vescicale. *b*) Trattamento endoscopico mediante fibra laser (*freccia*) montata su cistoscopio operatore Storz 19. *c*) Quadro endoscopico al termine dell'intervento.



Digitized by Google

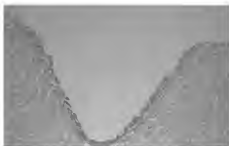



Fig. 75. Quadro istologico di taglio eseguito su rene di cavia con laser Nd:YAG. Non sono presenti danni termici significativi; il danno sui margini di sezione è minimo.

danno alle anse intestinali. Con questo tipo di laser possono essere pertanto trattate completamente le neoplasie di limitate dimensioni (stadio Ta, T1, T2); nelle forme di dimensioni maggiori (> 1 cm), purché negli stessi stadi, si può attuare inizialmente la resezione con l'ansa elettrica e successivamente irradiare con il laser la base del tumore al fine di ottenere una più completa radicalità oncologica assicurata anche dall'occlusione dei vasi linfatici. La necrosi del tessuto trattato avviene in pochi giorni, la cicatrizzazione e la rivascolarizzazione sono complete in circa 6 settimane (fig. 74).

I dati attualmente disponibili non consentono ancora di poter valutare la maggiore efficacia del trattamento con laser Nd:YAG rispetto a quello con ansa elettrica per quanto riguarda la ricorrenza delle recidive della neoplasia. Tuttavia nei pazienti trattati con laser Nd:YAG si ha una più efficace emostasi, una più rapida cicatrizzazione e di conseguenza un decorso postoperatorio migliore il che comporta anche una minore durata della degenza.

Il laser Nd:YAG trova inoltre utile impiego, in casi selezionati, nel trattamento palliativo delle stesse neoplasie vescicali giudicate inoperabili, per ridurre la massa tumorale e/o arrestare il sanguinamento.

**Stenosi ureterali**

Oltre alla patologia oncologica il laser Nd:YAG è stato impiegato nel trattamento endoscopico delle stenosi del giunto pielo-ureterale e dell'uretere. Le casistiche attualmente disponibili sono tuttavia ancora troppo limitate, soprattutto nei controlli a distanza, per poterne valutare il reale vantaggio nei confronti della terapia chirurgica tradizionale.

**Stenosi uretrali**

Più promettenti sono invece i risultati ottenibili nel trattamento per via endoscopica delle stenosi dell'uretra in alternativa agli interventi di uretrotomia interna. In questi casi si può sfruttare prevalentemente l'effetto fotocoagulativo o quello di vaporizzazione del laser Nd:YAG. L'effetto fotocoagulativo viene utilizzato dopo una normale uretrotomia a freddo per ottenere una perfetta emostasi, mentre l'effetto di vaporizzazione porta alla risoluzione della stenosi direttamente per vaporizzazione del tessuto sclero-cicatriziale irradiato. In questo tipo di patologia, gravato di per sé da un'alta incidenza di recidive, il minore danno ai tessuti sani circostanti indotto dall'energia laser dovrebbe condizionare una ridotta frequenza di queste o comunque dilazionarne la comparsa. Inoltre, qualora la stenosi recidivi a ripetuti trattamenti con il laser Nd:YAG, il successivo trattamento chirurgico mediante intervento di uretroplastica, presenta senz'altro il vantaggio di venire effettuato su tessuti scarsamente compromessi dai precedenti trattamenti.

**Urolitiasi**

Anche il trattamento della litiasi renoureterale rappresenta un capitolo in cui l'impiego dell'energia laser sta dimostrando la sua validità. I laser ad onda continua (a $CO_2$, ad argon, Nd:YAG), che emettono un'energia costante, non sono in grado di provocare la frattura del calcolo se non ricorrendo a livelli di energia tali da provocare un danno termico delle strutture adiacenti al calcolo. Questa limitazione è stata superata dall'introduzione del laser a colorante organico in funzionamento pulsato (*Pulse Dye Laser*) che emette impulsi di breve durata e di alta potenza, convogliabili su fibre ottiche al quarzo e che per la loro lunghezza d'onda vengono elettivamente assorbiti dal calcolo determinandone la frattura. I risultati in campo clinico sono senz'altro promettenti e se ne sta diffondendo il suo impiego in centri specializzati per il trattamento complementare alla litotrissia extracorporea con onde d'urto della calcolosi renoureterale.

**Laser a eccimeri in urologia**

Infine, tra i laser il cui impiego in campo urologico è per ora limitato alla sperimentazione su animali, segnaliamo il laser a eccimeri Xe-Cl. La principale caratteristica delle radiazioni di questo laser è quella di interagire con i tessuti mediante un processo di «decomposizione fotoablativa» determinando un taglio pulito senza provocare danno termico sul tessuto limitrofo.

La nostra esperienza con il laser ad eccimeri è stata condotta anche su prelievi operatori relativi a corpi cavernosi con placche fibrotiche e/o calcifiche nella malattia di La Peyronie o *induratio penis plastica*, pelvi renale e uretere.

Sperimentalmente abbiamo compiuto prove di ablazione valutandone le energie e i tempi necessari; inoltre sono stati esaminati istologicamente i tessuti trattati. L'esame istologico ha confermato la purezza del taglio e l'assenza di un danno termico significativo nelle zone adiacenti la superficie di taglio (fig. 75).

Per l'impiego del laser nelle lesioni superficiali del pene, v. sopra col. 4426.

**Bibliografia**

Council on Scientific Affairs, American Medical Association, Laser in Medicine and Surgery, *J.A.M.A.*, 1986, **258**, 900.
Dretler S. P., Watson G., Parrish J. A., Murray S., *J. Urol.*, 1987, **137**, 386.
Hofstetter A., Frank F., *Laser use in urology*, in Dixon J. A. ed., *Surgical Application of Laser*, 1983, Year Book, Chicago, p. 150.
Shanberg A. M., Chalfin S. A., Tamsey L. A., *Urology*, 1984, **24**, 15.
Smith J. A. jr., Dixon J. A., *J. Urol.*, 1984, **131**, 1080.
Smith J. A., *Urol. Clin. North Am.*, 1986, **13**, 405.
Staehler G., Chaussy C., Jocham D., Schmiedt E., *J. Urol.*, 1985, **134**, 1155.
Stein B. S., *Urol. Clin. North Am.*, 1986, **13**, 207.
Von Eschenbach A. C., *Urol. Clin. North Am.*, 1986, **13**, 381.

ALFIERO COSTANTINI E ROBERTO PONCHIETTI

## APPLICAZIONI DIAGNOSTICHE E BIOLOGICHE

SOMMARIO







Digitized by Google

## SPETTROSCOPIA LASER-DOPPLER

### Introduzione

La diffusione di luce laser può essere utilizzata in vari modi per acquisire informazioni di interesse biomedico. In questo capitolo discuteremo le applicazioni della diffusione dinamica (o quasielastica) di luce laser che sono legate alla misura del cambiamento di frequenza della luce diffusa rispetto alla luce incidente, mentre menzioneremo solo marginalmente la diffusione statica che consiste nella semplice misura dell'intensità e polarizzazione della luce diffusa.

Come vedremo, si può misurare la velocità di una particella sospesa in un fluido in movimento (velocimetria Doppler del sangue) o la velocità di deriva di una particella in presenza di un campo elettrico (elettroforesi mediante velocimetria laser), si può studiare la motilità di organismi biologici, e si possono ottenere dimensioni e forma di macromolecole biologiche e di strutture formate per aggregazione spontanea (micelle, vescicole). Come referenza generale per tutto il capitolo, cfr. Earnshaw e Steer, 1983.

### Diffusione di luce

Una particella sospesa in un fluido diffonde luce solo se il suo indice di rifrazione è diverso da quello del solvente. Per particelle piccole, l'intensità della radiazione diffusa è proporzionale ad $\alpha^2$, dove

$$(1) \qquad \alpha = (n_p^2 - n_s^2)V$$

$n_p$ è l'indice di rifrazione della particella, $n_s$ quello del solvente, e V è il volume della particella. Se la particella diffondente fosse ferma, la luce diffusa avrebbe esattamente la stessa frequenza della luce incidente. Se la particella si muove con una velocità $\vec{v}$ (fig. 76), la luce diffusa ad un angolo $\theta$ presenta uno spostamento in frequenza $\Delta\nu_D$ (questo è il cosiddetto *effetto Doppler*; v. anche: ECOGRAFIA*; ECOCARDIOGRAFIA*) dato da

$$(2) \qquad \Delta\nu_D = (4\pi n/\lambda)v \sin(\theta/2) \sin(\psi-\theta/2)$$

dove $\lambda$ è la lunghezza d'onda della luce incidente sulla particella, n è l'indice di rifrazione del mezzo, v è il modulo della velocità, e $\psi$ è l'angolo formato dal vettore $\vec{v}$ con la direzione del fascio incidente.

È utile a questo punto chiarire alcuni aspetti tecnici della misura. Osserviamo anzitutto che $\Delta\nu_D$, come risulta dall'eq. (2), dipende da $\theta$. Poiché la particella diffonde luce su tutto l'angolo solido, se vogliamo fare una misura precisa di

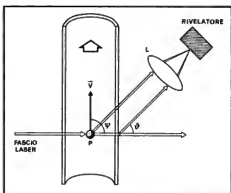



Fig. 76. Il fascio laser proveniente da sinistra viene parzialmente diffuso dalla particella P che è trascinata alla velocità $\vec{v}$ dal fluido che fluisce nel condotto in direzione verticale.

$\Delta\nu_D$, e quindi della velocità v, occorre selezionare l'angolo di diffusione $\theta$ attraverso l'ottica di raccolta della luce diffusa. In molti casi pratici il valore di $\Delta\nu_D$ è dell'ordine dei kHz, mentre la frequenza $\nu_0$ della luce incidente, se usiamo ad es. un laser elio-neon che emette nel rosso, è all'incirca $5 \cdot 10^{14}$ Hz (ricordiamo che $\nu_0 = c/\lambda$, dove c è la velocità della luce nel vuoto). Poiché $\Delta\nu_D$ è molto piccolo rispetto a $\nu_0$, la misura può essere eseguita solo con una tecnica differenziale: il rivelatore di luce raccoglie, oltre alla luce diffusa dalla particella in moto, anche una porzione di luce diffusa da un oggetto fermo (ad es., cfr. fig. 76, la parete del condotto in cui la particella fluisce). L'uscita del rivelatore presenterà quindi un segnale di battimento, oscillante alla frequenza, differenza che è appunto lo spostamento in frequenza $\Delta\nu_D$. Questa tecnica di misura fornisce solo il valore assoluto di $\Delta\nu_D$, si perde quindi l'informazione sul segno di $\Delta\nu_D$, cioè sul verso dello spostamento della particella. Tale informazione può però essere recuperata utilizzando una tecnica di misura più complessa.

È noto dalla fluidodinamica che la velocità del fluido non è uniforme sulla sezione del condotto: se il flusso è laminare, avremo una distribuzione parabolica della velocità con massimo sull'asse e valore nullo sulle pareti. Di conseguenza, se l'ottica di raccolta accetta la luce diffusa da tutta la sezione del condotto senza fare alcuna selezione, lo spettro della luce diffusa conterrà tutti i valori possibili dello spostamento Doppler dal valore 0 (dovuto al contributo delle particelle vicine alle pareti) fino al valore relativo alla velocità massima (contributo delle particelle che viaggiano sull'asse del condotto).

Una complicazione nell'interpretazione dei risultati può nascere dalla presenza di diffusione multipla. Se la luce diffusa una prima volta subisce, prima di uscire dal mezzo diffondente, ulteriori processi di diffusione, non sarà più possibile assegnare in modo semplice un legame tra spostamento in frequenza misurato e velocità della particella. Infatti, lo stesso valore di $\Delta\nu_D$ potrà provenire da un unico processo di diffusione di luce da una particella veloce o da due (o più) processi di diffusione in cascata da parte di particelle lente.

Si noterà che, nello spettro di fig. 77, il picco dovuto alla particella diffondente presenta un allargamento. Infatti,



Digitized by Google

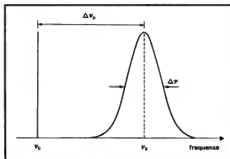



Fig. 77. Velocimetria Doppler: la luce incidente ha frequenza $\nu_0$, la luce diffusa ha frequenza $\nu_s = \nu_0 + \Delta\nu_D$, dove $\Delta\nu_D$ è lo spostamento Doppler, e presenta un allargamento in frequenza $\Delta\nu$.

una particella sospesa in un fluido si muove, a causa della agitazione termica, di un moto casuale, detto *moto browniano*. Tale moto provoca uno sparpagliamento in frequenza della luce diffusa. Se la luce incidente è monocromatica (cioè contiene una sola frequenza), la luce diffusa presenta un allargamento spettrale con una larghezza a metà altezza dello spettro pari a $\Delta\nu = Dk^2/\pi$, dove D è il coefficiente di diffusione traslazionale della particella. Nel caso di una particella sferica si ha:

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta R} \quad (3)$$

dove $k_B$ è la costante di Boltzmann, T la temperatura assoluta, $\eta$ la viscosità del solvente, e R il raggio della particella.

Misurando D, si può ricavare la dimensione della particella. Questo è particolarmente importante per le particelle piccole (da 1 nm a 1 μm) che non possono essere osservate direttamente con la microscopia ottica.

**Velocimetria Doppler del flusso sanguigno**

Si tratta di una tecnica non invasiva che permette di misurare il flusso sanguigno. La sua prima applicazione ha riguardato il flusso nei capillari della retina (Riva e Feke, 1981). Uno schema dell'apparato è mostrato in fig. 78. La sorgente di luce è un laser a elio-neon che emette nel rosso ad una lunghezza d'onda di 633 nm. Il fascio laser viene attenuato in modo da non superare, nella zona di focalizzazione, l'intensità limite di 0,1 W/cm². Al di sopra di tale valore c'è infatti un rischio di danneggiamento. Il fascio laser viene focalizzato su un singolo capillare.

È importante che l'occhio rimanga fermo durante l'intervallo di tempo necessario ad effettuare la misura: infatti un eventuale movimento oculare provocherebbe una variazione dell'angolo formato tra la direzione del fascio incidente e la direzione di flusso, e cambierebbe quindi, secondo l'eq. (2), il valore di $\Delta\nu_D$. Si cerca di ridurre al minimo i movimenti oculari chiedendo al paziente di fissare un oggetto con l'occhio sotto esame. Nello stesso tempo, si cerca di ottimizzare l'analisi elettronica del segnale per ridurre il tempo di misura.

I globuli rossi, che sono responsabili per la luce diffusa, non viaggiano tutti con la stessa velocità dentro al capillare, ma presentano, come detto sopra, un profilo di velocità parabolico. La luce diffusa contiene contributi provenienti da tutta la sezione del capillare, e quindi presenta una distribuzione di spostamenti Doppler da 0 per particelle diffondenti che siano vicine alla parete del capillare fino ad un valore massimo per le particelle che viaggiano nel centro

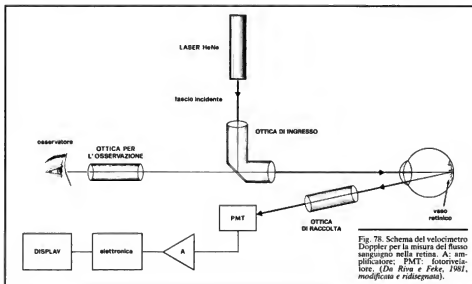



Fig. 78. Schema del velocimetro Doppler per la misura del flusso sanguigno nella retina. A: amplificatore; PMT: fotorivelatore. (*Da Riva e Feke, 1981, modificata e ridisegnata*).

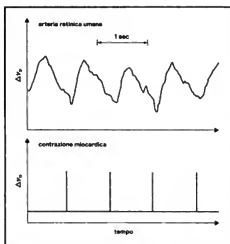



Fig. 79. Velocità del flusso sanguigno in un capillare di retina umana in funzione del tempo. Il diagramma inferiore mostra le pulsazioni cardiache rilevate su di un polpastrello (*Da Riva e Feke, 1981, modificata e ridisegnata*).

del capillare. Negli strumenti di uso clinico non si ricava tutto lo spettro della luce diffusa, ma si ottiene semplicemente lo spostamento massimo in frequenza. Tale spostamento è proporzionale alla velocità nel centro del capillare. Tenendo conto del fatto che l'intensità totale della radiazione diffusa è proporzionale al numero di globuli rossi nella zona illuminata, l'esperimento di velocimetria Doppler permette di misurare il flusso sanguigno, definito come il numero di globuli rossi al secondo che attraversa la sezione del capillare.

È utile ricordare alcuni valori tipici delle grandezze in esame. Nel caso dei capillari della retina la velocità massima è di qualche cm/s. Se scegliamo $v = 2$ cm/s, $\lambda = 0{,}63$ μm, $\psi = 90°$, e consideriamo una configurazione di diffusione all'indietro ($\theta = 170°$), ricaviamo dall'eq. (2) che $\Delta v_D$ è all'incirca 5 kHz. Il tempo di misura può essere ridotto fino ad un decimo di secondo. È importante notare che, quando la durata dell'intervallo di misura è più breve della durata del ciclo cardiaco (che è circa un secondo), il valore osservato $\Delta v_D$ mostra una oscillazione sincrona con il ciclo cardiaco (fig. 79). Il rapporto fra il valore di $\Delta v_D$ sistolico e quello diastolico è circa 3 in condizioni normali.

Uno studio sistematico condotto su pazienti affetti da retinopatia diabetica (Feke *et al.*, 1985) ha mostrato un aumento del $\Delta v_D$ medio (corrispondente ad un aumento del flusso sanguigno medio nella retina), ed anche delle deviazioni significative del rapporto sistolico/diastolico del $\Delta v_D$ rispetto alla situazione normale. Si può quindi affermare che le misure di velocimetria Doppler del flusso sanguigno nella retina possono rivelare alterazioni vascolari dovute a retinopatie diabetiche.

Poiché il sangue diffonde la luce molto efficacemente, il fascio di luce incidente si attenua rapidamente propagandosi nella vena. Se il diametro della vena è grande, la luce incidente non riesce a penetrare fino al centro della vena, ed il contributo principale alla luce diffusa proviene dalla zona più vicina alla parete. Per di più, non sarà trascurabile l'effetto della diffusione multipla. Questo rende impossibili misure assolute di flusso sanguigno in vene il cui diametro superi 200-300 μm. È però sempre possibile ottenere dati relativi che hanno un rilevante significato clinico.

La velocimetria laser-Doppler può essere utilizzata per rilevare il flusso sanguigno sottocutaneo, utilizzando una sonda a fibra ottica che viene posta a contatto dell'epidermide (Nilsson, 1980). La sonda porta il fascio laser incidente e, nello stesso tempo, raccoglie la luce diffusa da analizzare.

Esiste uno strumento commerciale (Perimed®, Svezia) che può effettuare tali misure. Lo strumento è corredato di diverse sonde utilizzabili anche per indagini endoscopiche. In questa applicazione viene raccolta luce diffusa simultaneamente da diversi capillari aventi tutte le possibili orientazioni: lo spostamento Doppler misurato rappresenta quindi una media complicata che si può tuttavia ritenere proporzionale al flusso sanguigno complessivo nel volume illuminato. La profondità di penetrazione della luce attraverso l'epidermide è tipicamente di 200-400 μm. Lo strumento si è rivelato utile in diverse applicazioni, soprattutto in situazioni nelle quali è richiesta una rilevazione automatica a intervalli regolari di tempo della circolazione sanguigna in una zona specifica.

In dermatologia, si può studiare in modo quantitativo l'effetto di irritanti perché il grado di irritazione dell'epidermide è direttamente collegabile ad un aumento del flusso sanguigno. In farmacologia, si possono valutare gli effetti microvascolari di farmaci vasodilatatori o vasocostrittori. In chirurgia plastica, si può fare un monitoraggio automatico postoperatorio del flusso sanguigno nella zona interessata dall'operazione.

**Motilità di cellule e organismi viventi**

Esistono cellule e organismi viventi dotati di un apparato di locomozione che possono quindi muoversi autonomamente quando sono in soluzione. Casi tipici sono quelli di alcuni batteri dotati di flagelli, come *Escherichia coli*, e gli spermatozoi (cfr. l'articolo di B. Volochine in Earnshaw e Steer, 1983). Gli esempi che useremo in questo capitolo riguardano principalmente gli spermatozoi.

Se osserviamo una soluzione di spermatozoi notiamo che le singole cellule si muovono di moto rettilineo con direzione casuale, cambiando ogni tanto la direzione di movimento. Tale moto differisce dal normale movimento browniano per la lunghezza dei tratti rettilinei percorsi che è di diversi μm nel caso della motilità mentre è inferiore a 1 nm nel caso del moto browniano in soluzione acquosa. Come è noto, la motilità degli spermatozoi è un parametro importante perché è direttamente collegato alla fertilità.

Nella fig. 80 viene mostrato, in scala lineare e in scala semilogaritmica, un tipico spettro della luce diffusa. Si noti il picco attorno alla frequenza zero che è dovuto alle cellule «morte», cioè prive di motilità. Lo spettro dovuto alla motilità ha un decadimento esponenziale che diventa lineare in scala semilogaritmica: la pendenza della retta in scala semilogaritmica fornisce la velocità caratteristica $v_c$ delle cellule dotate di motilità. I valori tipici di $v_c$ sono attorno a 100 μm/s. Il rapporto fra l'area dello spettro di motilità e l'area complessiva (comprendente anche il picco a bassa frequenza) definisce la frazione f di spermatozoi dotati di motilità.

La possibilità di ricavare con una misura veloce e relativamente semplice i parametri $v_c$ e f apre la strada a studi di vario tipo sulla biologia della riproduzione. Ad es., si può studiare l'effetto di anticorpi confrontando i valori di $v_c$ e di f ottenuti con misure di diffusione di luce su soluzioni senza e con l'aggiunta di anticorpi.



Digitized by Google

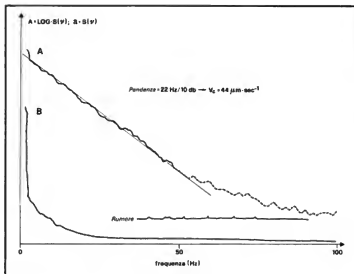



Fig. 80. Spettro ottenuto in una misura di motilità di spermatozoi mediante la diffusione quasi elastica di luce laser (*Da B. Volochine, in Earnshaw e Steer, 1983; modificata e ridisegnata*).

## Elettroforesi

Se poniamo una soluzione di particelle cariche elettricamente tra due elettrodi a diverso potenziale elettrico, il campo elettrico provocherà un movimento di deriva delle particelle che tenderanno a migrare verso l'elettrodo di segno opposto a quello della loro carica elettrica. Questo è il fenomeno noto come elettroforesi (v.) che è molto utilizzato come tecnica sia analitica sia separativa di macromolecole biologiche. La velocità di deriva è

$$\vec{v} = u\vec{E} \quad (4)$$

dove la mobilità elettroforetica u è proporzionale alla carica elettrica della particella.

La velocimetria Doppler permette di ricavare u con rapidità e precisione attraverso strumentazione automatizzabile (cfr. gli articoli di Ware B. e Yu H., in Earnshaw e Steer, 1983), ed è particolarmente utile nel caso di particelle submicroscopiche il cui moto di deriva non può essere osservato direttamente attraverso un microscopio.

In uno schema tipico di misura l'angolo $\psi$, tra il fascio incidente e la velocità $\vec{v}$, è 90°. L'angolo $\theta$ tra fascio incidente e fascio diffuso è tipicamente 2-5°, ed è quindi abbastanza piccolo perché si possa approssimare $\sin(\theta/2)$ con $\theta/2$ e $\cos(\theta/2)$ con 1. Utilizzando l'eq. (2), si ottiene:

$$\Delta\nu_D = \frac{2\pi n u \theta V_a}{\lambda d} \quad (5)$$

dove $V_a$ è la tensione applicata e d è la distanza tra gli elettrodi.

Da una misura di $\Delta\nu_D$ si può quindi ricavare la mobilità u, se tutte le altre grandezze che compaiono a secondo membro dell'eq. (5) sono note.

In pratica, non è sempre facile misurare con precisione $\Delta\nu_D$ per vari motivi. Anzitutto, la soluzione potrebbe contenere diverse particelle con mobilità differenti. In linea di principio ciascun tipo di particella dovrebbe dar luogo ad

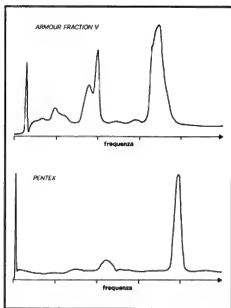



Fig. 81. Spettri ottenuti con la velocimetria Doppler relativi alla elettroforesi in gelatina di acrilamide di due diverse preparazioni di albumina di siero bovino BSA (*Da H. Yu, in Earnshaw e Steer, 1983, modificata e ridisegnata*).





Digitized by Google

un picco separato, ma se alcuni picchi tendono a sovrapporsi diventa difficile analizzare i risultati.

A titolo di esempio, la fig. 81 presenta i risultati ottenuti con due campioni diversi di una proteina, l'albumina di siero bovino (BSA). Il campione Pentex contiene poche impurezze, mentre nel campione Armour vi sono concentrazioni notevoli di molecole diverse dal BSA.

Un secondo tipo di problema può nascere se le particelle da studiare sono molto piccole. Infatti esisterà sempre, sovrapposto al moto di deriva indotto dal campo elettrico, anche il moto browniano spontaneo della particella. Tale moto provoca, come abbiamo già osservato, uno sparpagliamento $\Delta\nu$ della frequenza della luce diffusa. Chiaramente diventa difficile misurare $\Delta\nu_0$ se $\Delta\nu$ non è piccolo rispetto a $\Delta\nu_0$. Poiché $\Delta\nu$ è inversamente proporzionale alla dimensione della particella, è più difficile soddisfare la condizione $\Delta\nu \ll \Delta\nu_0$ per particelle piccole. Da un punto di vista tecnico, occorre molta attenzione nella progettazione della cella di elettroforesi perché possono esserci molte sorgenti di artefatti in questo tipo di misura.

**Caratterizzazione di macromolecole e aggregati**

Lo studio del moto browniano di particelle in soluzione permette, come abbiamo detto, di ricavare, misurando lo sparpagliamento $\Delta\nu$ della frequenza della luce diffusa, il coefficiente di diffusione D (cfr. gli articoli di Degiorgio V. e di Cummins H. Z., in Earnshaw e Steer, 1983). L'interesse della diffusione di luce è legato al fatto che permette di studiare macromolecole biologiche in situazioni molto simili a quelle fisiologiche e di osservare, ad es., cambiamenti di configurazione quando viene cambiato l'ambiente in cui si trova la macromolecola. In pratica, la misura viene fatta nel dominio del tempo anziché in quello della frequenza: invece di misurare lo spettro della radiazione diffusa, si misura la funzione di autocorrelazione temporale dell'intensità diffusa, utilizzando correlatori digitali che sono disponibili commercialmente. Per questo motivo la tecnica viene chiamata da alcuni AA. *spettroscopia delle correlazioni di intensità* o *spettroscopia delle correlazioni di fotoni* anziché *diffusione quasielastica di luce*.

Concettualmente le due tecniche sono equivalenti: lo spettro coincide con la trasformata di Fourier della funzione di correlazione. Nel caso semplice in cui la luce diffusa proviene da una soluzione contenente un solo tipo di particelle (soluzione monodispersa), la parte dipendente dal tempo della funzione di correlazione è esponenziale, $\exp(-t/\tau)$, dove la costante di tempo $\tau = (2k^2D)^{-1}$. Dalla misura di $\tau$ si può quindi ricavare D, e quindi la dimensione della particella utilizzando la (3). Un caso interessante è quello dello studio di cambiamenti di forma di macromolecole biologiche in conseguenza di variazioni di condizione ambientale (cambiamento di temperatura, cambiamento di composizione del solvente): ad es., si può studiare la denaturazione di una proteina o la transizione elica-gomitolo di un polipeptide semplicemente misurando l'evoluzione di D al variare delle condizioni ambientali.

Un'applicazione importante è quella legata allo studio di processi di aggregazione. Come si è detto sopra (cfr. la [2]), l'intensità della radiazione diffusa è proporzionale al quadrato del volume della particella. Questo vuol dire che la diffusione di luce è una tecnica molto sensibile a variazioni di dimensione delle particelle diffondenti. Un caso di notevole interesse pratico riguarda la diagnosi precoce della cataratta (Tanaka e Benedek, 1975): infatti l'opacizzazione del cristallino sembra essere dovuta a processi di aggregazione di proteine. La formazione di aggregati provoca un aumento del potere diffondente, e quindi una diminuzione di trasparenza del cristallino. La diffusione di luce è utile sia per una diagnosi precoce dell'insorgere della cataratta, sia per un controllo dell'efficacia di sostanze chimiche che vengono introdotte per favorire la disaggregazione delle proteine.

La diffusione di luce laser è importante per lo studio di fenomeni di aggregazione di molecole anfifiliche (Degiorgio e Corti, 1985), cioè molecole che sono costituite dalla unione di una parte idrofobica (lipidica) e da una parte idrofilica (gruppo ionico o polare). Fra le molecole anfifiliche di origine biologica si ricordano i sali biliari che formando micelle miste con la lecitina hanno un ruolo importante nei processi di solubilizzazione del colesterolo, i fosfolipidi e i glicolipidi che sono costituenti essenziali delle membrane biologiche. Oltre all'ovvio interesse biochimico, questo tipo di studio ha diverse implicazioni farmacologiche: si ricorda, ad es., che liposomi (vescicole) di fosfolipidi potrebbero essere usati come trasportatori di farmaci in zone specifiche dell'organismo (v. LIPOSOMI*).

In molti casi pratici l'interpretazione delle misure di diffusione di luce è più complessa di quanto sopra accennato per una serie di motivi che ci si limita qui ad accennare. Anzitutto può accadere che le particelle non abbiano forma sferica: in questo caso la misura di D non è sufficiente per ricavare la dimensione delle particelle, occorre anche qualche informazione sulla forma. In diverse situazioni, le particelle sono interagenti, cioè il moto browniano di una particella è influenzato dalla presenza di altre particelle. Di solito, questo effetto è molto importante per particelle con carica elettrica perché le interazioni elettriche si esercitano anche a distanze molto grandi rispetto alla dimensione della particella.

Molti studi *in vitro* di soluzioni di macromolecole di interesse biologico sono stati effettuati utilizzando la diffusione quasielastica. Tipicamente il volume da cui viene raccolta la luce diffusa ha una dimensione lineare di 0,1 mm (volume di $10^6$ $\mu m^3$). In diversi casi di interesse biologico o clinico sarebbe desiderabile lavorare su volumi molto minori per studiare in modo selettivo il comportamento di singole cellule. Questo è possibile accoppiando la microscopia ottica con la diffusione quasielastica di luce laser (Nishio, 1983). Il fascio laser viene focalizzato su un'area dell'ordine di 2 $\mu m^2$, con una profondità di campo dell'ordine di 1 $\mu$m.

A titolo di esempio, discutiamo un esperimento di diffusione di luce da un singolo globulo rosso: la luce diffusa presenta uno sparpagliamento in frequenza dovuto al moto browniano delle molecole di emoglobina presenti dentro alla cellula. Se le molecole di emoglobina formano aggregati, il moto browniano dell'aggregato sarà molto più lento di quello della molecola isolata, cioè il coefficiente di diffusione D sarà più piccolo e, di conseguenza, l'allargamento spettrale della luce diffusa sarà più piccolo. Poiché l'aggregazione dell'emoglobina è un fenomeno importante in alcune forme di anemia, è molto interessante disporre della possibilità di studiare tale fenomeno sulla singola cellula in modo quantitativo e non invasivo.

**Bibliografia**


Degiorgio V., Corti M. eds., *Physics of Amphiphiles: Micelles, Vesicles and Microemulsions*, 1985, North-Holland, Amsterdam.
Earnshaw J. C., Steer M. W. eds., *The Application of Laser Light Scattering to the Study of Biological Motion*, 1983, Plenum Press, New York.
Feke G. T. *et al.*, *Ophtalmology*, 1985, **92**, 1517.
Nilsson G. E. *et al.*, *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, 1980, **BME-27**, 597.
Nishio I. *et al.*, *Science*, 1983, **220**, 1173.
Riva C. E., Feke G. T., in Goldman L. ed., *The Biomedical Laser: Technology and Clinical Applications*, 1981, Springer, Berlin.
Tanaka T., Benedek G. B., *Investigative Ophthalmology*, 1975, **14**, 449.


VITTORIO DEGIORGIO





Digitized by Google

## TECNICHE LASER IN MICROSCOPIA

### Introduzione

Le proprietà della sorgente laser (elevata direzionalità, monocromaticità, coerenza e brillanza) hanno permesso lo sviluppo di nuovi metodi di microscopia con risoluzione che può superare anche il limite della diffrazione della luce visibile.

In alcuni di questi nuovi metodi, l'elevata direzionalità e la brillanza del fascio laser sono direttamente sfruttate per realizzare nuove microscopie ottiche (*microscopia laser a scansione*) che si differenziano da quelle convenzionali soprattutto per la raccolta delle immagini; in altri metodi si sfruttano altri principi fisici della propagazione della luce laser (*microscopia a scansione ad effetto tunnel ottico, microscopia ottica a scansione a campo prossimo*); in altri infine il laser viene usato come rivelatore di interazioni di diverso tipo tra un generico sensore e il preparato (*microscopia a scansione a rivelazione di forza*). Tutte queste nuove microscopie hanno in comune la proprietà di essere tecniche di scansione, cioè di costruire l'immagine punto per punto e la risoluzione è completamente definita dall'interazione tra il sensore e il preparato; *sono adatte però solo a visualizzare superfici o strati sottili di materiale sufficientemente trasparente*. Alcune di queste tecniche hanno risoluzione comparabile o superiore alla microscopia elettronica sia a scansione che in trasmissione e comunque tutte hanno, rispetto alla microscopia elettronica, il grande vantaggio di non richiedere alcuna preventiva manipolazione del campione quale il fissaggio o la ricopertura con metallo e quindi possono direttamente visualizzare preparati biologici *in vivo* e in alcuni casi seguire in tempo reale l'evolversi di processi biologici.

### Microscopia laser a scansione (LSM; CSLM)

Vi sono molti modi di realizzare un microscopio laser a scansione (LSM: *Laser Scanning Microscopy*; Wilson e Sheppard, 1984): lo scopo è di fare muovere su un preparato una macchia puntiforme quanto più piccola possibile e raccogliere la luce riflessa o emessa per fluorescenza con un fotorivelatore e visualizzarla su un monitor TV spazzolato in sincronismo con il movimento della macchia luminosa.

I vantaggi di un microscopio laser a scansione sono: la costruzione dell'immagine dell'oggetto è realizzata punto per punto con un ingrandimento continuamente variabile; l'immagine è ottenuta sotto forma di segnale elettrico e quindi può essere immagazzinata e poi trattata con tecniche varie di filtraggio e di riduzione del rumore; la possibilità di immagazzinare immagini diverse di un oggetto permette anche una ricostruzione tridimensionale dell'oggetto. Il principale svantaggio del microscopio laser a scansione è quello di ottenere immagini in modo sequenziale e quindi non in tempo reale, ma sono stati realizzati anche microscopi a scansione in grado di ottenere immagini in modo parallelo e quindi in tempo reale (Kino e Corle, 1990).

Il più interessante dei microscopi laser a scansione è quello *confocale* (*Confocal Scanning Laser Microscope*: CSLM) nel quale solo l'immagine proveniente dal piano focale della zona puntiforme illuminata viene raccolta, mentre la luce riflessa da piani focali diversi viene tagliata. In fig. 82 viene schematicamente descritto lo schema ottico di principio di un microscopio a scansione confocale: un fascio laser ad argon focalizzato illumina intensamente un piccolo volume del campione posto nel piano focale A del microscopio. Solo la luce riflessa o di fluorescenza proveniente da A passa attraverso l'apertura posta davanti al rivelatore, che blocca invece luce proveniente da piani, per es. B, fuori dal fuoco. Muovendo il fascio laser o il campione si registra un'immagine che rappresenta una sottile sezione del preparato posta sul piano focale A. Ripetute scansioni, usando diverse messe a fuoco del microscopio, producono una pila di immagini che rappresentano la struttura tridimensionale del preparato. In fig. 83 è mostrato lo schema a blocchi di un microscopio laser confocale a scansione completamente computerizzato e in grado di fare scansioni in tre dimensioni (Carlsson e Åslund, 1987). Per l'illuminazione è sufficiente un laser di piccola potenza (qualche milliwatt); è preferibile in riflessione usare un laser di lunghezza d'onda corta (blu-verde) per una maggiore luminosità dell'immagine; in fluorescenza sarebbe utile avere sorgenti laser che emettessero a lunghezza d'onda corta (blu-verde) e variabile. Un laser che possiede entrambe le caratteristiche sopracitate è quello ad argon, la cui potenza massima di uscita può variare, a seconda dei modelli, da qualche decina di milliwatt a qualche decina di watt e che è in grado di emettere con sufficiente intensità nello spettro blu-verde (458-514 nm). I migliori risultati si ottengono nella visualizzazione di superfici o di preparati sufficientemente trasparenti (figg. 84 e 85).

Accanto al CSLM occorre porre il TSM (*Tandem Scanning Microscope*), anch'esso un microscopio confocale che però non usa il laser. V. anche: MICROSCOPIA E MICROSCOPIO*.

### Microscopia a scansione ad effetto tunnel ottico (PSTM)

Il principio fisico su cui si basa il PSTM (*Photon Scanning Tunneling Microscope*) è il *tunneling* dei fotoni da un mezzo a indice di rifrazione maggiore ad uno a indice di rifrazione minore. Questo effetto si ha quando un fascio di luce incide in condizioni di riflessione totale su una superficie di separazione tra due mezzi di indice di rifrazione diversi; anche se la maggior parte della luce viene riflessa, un'onda evanescente si propaga dal mezzo con indice di rifrazione maggiore nel mezzo con indice di rifrazione minore. L'intensità di questa onda decade esponenzialmente all'aumentare della distanza dalla superficie di separazione riducendosi di un fattore 10 per distanze dell'ordine di 600 Å.

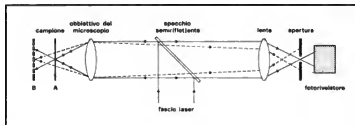



Fig. 82. Cammino ottico di un microscopio confocale.





Digitized by Google

segnale di posizione
laser ad argon
specchio
lente
aperture
fototubo
convertitore analogico-digitale
specchio semiriflettente
deflettore galvanometrico
motore passo a passo
unità di pilotaggio
unità di controllo del motore passo a passo
scheda parallela ingresso - uscita
specchio
unità di pilotaggio
interfaccia multipla
obbiettivo
memoria di immagine 1024 x 1024 Bytes
campione
motore passo a passo
TV

Fig. 83. Schema del microscopio a scansione confocale usato al Royal Institute of Technology di Stoccolma. Lo spazzolamento del fascio laser sul campione è ottenuto per mezzo di due specchi, pilotati rispettivamente da un sistema galvanometrico e da un motore passo a passo; la scansione dei piani focali è ottenuta variando automaticamente il fuoco del microscopio con un motore passo passo controllato da calcolatore. (*Da Carlsson e Aslund, 1987, modificata e ridisegnata*).

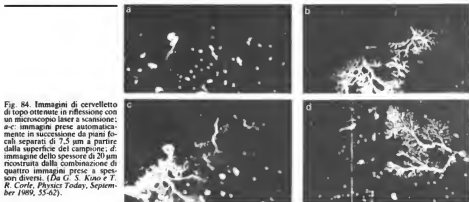



Fig. 84. Immagini di cervelletto di topo ottenute in riflessione con un microscopio laser a scansione; *a-c*: immagini prese automaticamente in successione da piani focali separati di 7,5 μm a partire dalla superficie del campione; *d*: immagine dello spessore di 20 μm ricostruita dalla combinazione di quattro immagini prese a spessori diversi. (*Da G. S. Kino e T. R. Corle, Physics Today, September 1989, 55-62*).





Digitized by Google

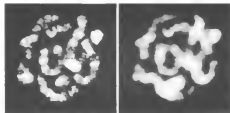



Fig. 85. Confronto tra immagini ottenute in fluorescenza con tecniche confocali o con tecniche convenzionali di cromosomi giganti di *Chironomus* colorati con ioduro di propidio; l'immagine confocale (*a sinistra*) mostra migliore risoluzione e contrasto rispetto all'immagine non confocale (*a destra*). (*Da T. Takamatsu e S. Fujita, 1988*).

Se si avvicina un mezzo di indice di rifrazione maggiore si può raccogliere l'onda evanescente prodotta dal fascio laser e rivelarne l'intensità in funzione della distanza. In questo modo si possono misurare spostamenti dell'ordine dell'Ångstrom, cioè delle dimensioni atomiche (Allegrini *et al.*, 1971); si è quindi pensato di utilizzare questo effetto per visualizzare corrugazioni di superfici con risoluzione verticale dell'ordine delle dimensioni atomiche, ma la difficoltà stava nel fatto che se si raccoglieva l'onda evanescente con la normale ottica, la risoluzione laterale era limitata dalla diffrazione e quindi dello stesso ordine di grandezza della lunghezza d'onda della luce (qualche frazione di micron), non diversa da un microscopio ottico convenzionale. Un miglioramento sensibile della risoluzione laterale, che permette di visualizzare superfici con risoluzione di circa un ordine di grandezza maggiore della microscopia ottica convenzionale, è stato raggiunto raccogliendo l'onda evanescente con una fibra ottica rastremata avente una punta con un diametro di 1500 Å (Reddick *et al.*, 1989). In questo caso la risoluzione laterale non è più limitata dalla diffrazione ma dalle dimensioni della punta. In fig. 86 è

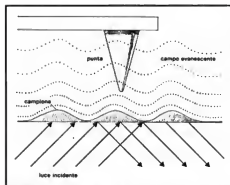



Fig. 86. Schema del principio di funzionamento di un PSTM (*Photon Scanning Tunneling Microscope*): la punta sente le modulazioni, indotte dal campione, dell'intensità dell'onda evanescente prodotta da fascio laser in riflessione totale. (*Da Reddick et al., 1989, modificata e ridisegnata*).

mostrato lo schema di funzionamento del microscopio: la sorgente comunemente usata è un laser He-Ne (luce rossa) di 7 mW di potenza luminosa che viene fatto incidere sul campione ad un angolo appena superiore all'angolo limite di riflessione totale. La scansione tridimensionale è ottenuta attaccando rigidamente la fibra ottica che raccoglie la luce ad un tripode piezoelettrico pilotato elettricamente. La risoluzione verticale può essere migliorata, usando laser di maggior potenza compatibilmente con la necessità di preservare il campione, di più corta lunghezza d'onda e facendo incidere il fascio con un angolo molto maggiore dell'angolo limite di riflessione totale.

Il limite di questo metodo è la sua applicabilità solo a preparati di spessore submicrometrico e molto trasparenti; miglioramenti della risoluzione laterale sono possibili riducendo le dimensioni della punta della fibra ottica che raccoglie l'onda evanescente.

**Microscopia ottica a scansione a campo prossimo (NSOM)**
Un altro metodo (NSOM: *Near Field Scanning Optical Microscopy*) per ottenere una microscopia con riduzione migliore del microscopio ottico convenzionale è stato quello di realizzare un microscopio a scansione in trasmissione o in riflessione in cui o il sistema di illuminazione o il sistema di raccolta è formato da una micropipetta internamente ricoperta da materiale riflettente e terminante con una punta di dimensioni minori della lunghezza d'onda (Betzig *et al.*, 1986). In questo modo la risoluzione laterale è limitata solo dalla dimensione della punta della micropipetta.

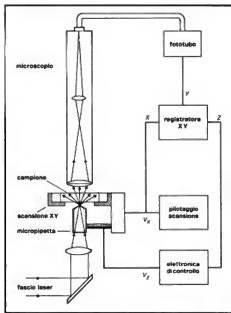



Fig. 87. Schema a blocchi di un microscopio a scansione a campo prossimo (NSOM: *Near-Field Scanning Optical Microscopy*). (*Da D. W. Pohl et al., 1988*).

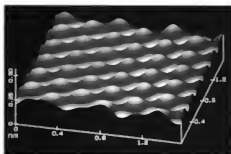



Fig. 88. Atomi di oro visualizzati da un microscopio a forza atomica (AFM: *Atomic Force Microscope*). (*Per gentile concessione della Digital Instruments, Inc., Santa Barbara, California*).

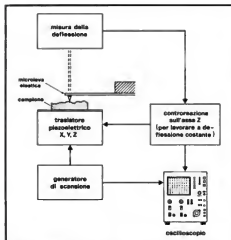
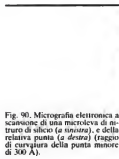
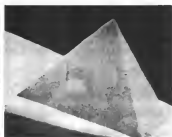



Fig. 89. Schema a blocchi del microscopio a forza atomica (AFM).

Fino ad ora sono state realizzate micropipette con punte di diametro dell'ordine di 1000 Å.

Limiti del metodo sono la debolissima intensità dell'illuminazione e il suo decadimento rapido appena fuori dalla punta, se usato in trasmissione; cioè significa la possibilità di visualizzare solo preparati molto sottili, di spessore submicrometrico. In fig. 87 è illustrato lo schema del microscopio; anche in questo caso la scansione tridimensionale è realizzata pilotando elettronicamente un tripode *xyz* di attuatori piezoelettrici solidali al sistema di illuminazione o di raccolta della luce; la sorgente laser deve essere intensa e di lunghezza d'onda corta (laser ad argon).

**Microscopia a scansione a rivelazione di forza (SFM; AFM)**

L'immagine di superfici può essere ottenuta rivelando interazioni diverse da quella tra luce e materia, per es. nel caso di superfici caratterizzate da proprietà magnetiche o elettriche, rivelando forze magnetiche o elettrostatiche (Wickramasinghe, 1989), ma più in generale per tutti i materiali rivelando le forze di interazione tra un sensore e gli atomi superficiali (forze di Van der Waals o forse repulsive di contatto [da cui il nome di *Scanning Force Microscope*: SFM]). Quest'ultimo tipo di microscopio a scansione è chiamato *microscopio a forza atomica* (AFM: *Atomic Force Microscope*) (Binnig *et al.*, 1986); la risoluzione che si ottiene è dell'ordine dell'Ångstrom, cioè delle dimensioni atomiche, e si riesce quindi a visualizzare gli atomi (fig. 88).

Il microscopio a forza atomica è composto essenzialmente da: il sensore di forza atomica, il rivelatore degli spostamenti submicroscopici del sensore, la scansione del preparato e la elaborazione del segnale rivelato: lo schema a blocchi è mostrato in fig. 89. Il sensore è generalmente realizzato da una microleva flessibile di dimensioni microscopiche provvista di una punta con raggio di curvatura submicrometrico (possibilmente atomico) che interagisce con gli atomi di superficie del preparato (fig. 90). Le piccolissime deflessioni verticali della microleva, dell'ordine delle dimensioni atomiche, richiedono un sistema di rivelazione molto sensibile che è stato realizzato con l'uso di tecniche laser. La scansione del preparato e la costruzione dell'immagine sono simili a quelle usate in altre microscopie di scansione, anche se l'estrema sensibilità del microscopio richiede soluzioni costruttive particolari per ridurre vibrazioni e derive termiche.

Il tipo di interazione punta-superficie che consente risoluzioni atomiche è la forza repulsiva di contatto (circa $10^{-9}$ Newton), che decade molto rapidamente con la distanza e che quindi è limitata a un solo atomo.

Fig. 90. Micrografia elettronica a scansione di una microleva di nitruro di silicio (*a sinistra*), e della relativa punta (*a destra*) (raggio di curvatura della punta minore di 300 Å).



Digitized by Google

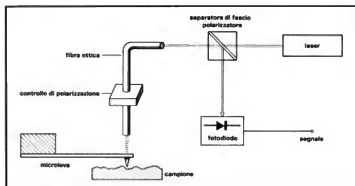



Fig. 91. Schema di un sistema interferometrico di rilevazione degli spostamenti submicrometrici della microleva.

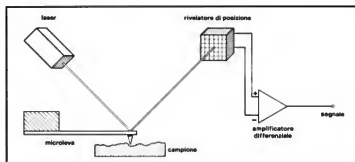



Fig. 92. Schema di un sistema a deflessione di fascio laser per la rilevazione degli spostamenti submicrometrici della microleva.

I sistemi di rivelazione che sfruttano le caratteristiche di un fascio laser fino a ora usati sono: un sistema interferometrico (fig. 91) e un sistema che rivela la deflessione di un fascio laser (fig. 92). Solo il secondo, in pratica, è in grado di fornire con riproducibilità immagini di preparati con risoluzione atomica; in esso un fascio laser (He-Ne laser) è riflesso dalla microleva su un fotorivelatore sensibile alla posizione, amplificando direttamente i piccolissimi spostamenti verticali della microleva in apprezzabili differenze di intensità luminosa rivelate da due fotocelle accoppiate in modo differenziale. In questo modo sono stati rivelati spostamenti inferiori a un decimo di Ångstrom. Per evitare derive termiche il microscopio deve essere molto compatto e miniaturizzato; il laser, incorporato nella testa del microscopio, è un diodo laser a stato solido che emette nel rosso (670 nm) con potenza di qualche milliwatt.

Fig. 93. Immagine della superficie di un cristallo dell'aminoacido DL-leucina ottenuta con microscopio a forza atomica; la base dell'immagine è pari a 25 Å (*Fotografia di Scot Gould, Depart. of Physics, Univ. of California; da Science, 1988, 242*).

Questa microscopia è già stata applicata con successo (Drake *et al.*, 1989) alla visualizzazione diretta, senza preventive preparazioni, di superfici di campioni biologici sia in aria che in ambiente acquoso (fig. 93).

V. anche: MICROSCOPIA ELETTRONICA*; MICROSCOPIA E MICROSCOPIO*.

**Bibliografia**

Allegrini M., Ascoli C., Gozzini A., *Optics Communications*, 1971, **2**, 435-437.
Betzig E. *et al.*, *Biophisical J.*, 1986, **49**, 269-279.
Binnig G., Quate C. F., Gerber Ch., *Physical Review Letters*, 1986, **56**, 930-933.
Carlsson K., Åslund N., *Applied Optics*, 1987, **26**, 3232-3238.
Drake B. *et al.*, *Science*, 1989, **243**, 1586-1589.
Hansma P. K. *et al.*, *Science*, 1988, **242**, 209-216.
Kino G. S., Corle T. R., *Circuits and Devices*, March 1990, 28-36.
Pohl D. W., Fischer U. Ch., Durig U. T., *J. Microscopy*, 1988, **152**, 853.





Digitized by Google

Reddick R. C., Warmack R. J., Ferrell T. L., *Physical Review B*, 1989, **39**, 767-770.
Takamatsu T., Fujita S., *J. Microscopy*, 1988, **149**, 167.
Wickramasinghe H. K., *Le Scienze*, Dicembre 1989, 86-96.
Wilson T., Sheppard C., *Theory and Practice of Scanning Optical Microscopy*, 1984, Academic Press, London.

CARLO FREDIANI

## SPETTROSCOPIA DI FLUORESCENZA LASER NELLA DIAGNOSI DEI TUMORI

### Introduzione

In ambito oncologico si è evidenziato come l'efficacia della terapia dipenda apprezzabilmente da quanto precoce sia stata la diagnosi del tumore primario. Si consideri, ad es., il tumore polmonare che è uno dei tumori maligni con maggiore incidenza di mortalità. La prognosi con gli attuali metodi di diagnosi è decisamente sfavorevole, con solo il 10% dei pazienti che sopravvivono per più di 5 anni dalla diagnosi.

La sopravvivenza è tuttavia migliore, fino ad una percentuale dell'80% dei pazienti, se il tumore è individuato in uno stato iniziale, cioè quando è allo stadio di carcinoma *in situ* o sufficientemente piccolo e ancora poco invasivo, con assenza di metastasi. Questi tumori sono troppo piccoli per essere diagnosticati con una radiografia del torace o con la tomografia assiale computerizzata (TAC). Sebbene la loro presenza possa essere spesso evidenziata dalla osservazione di cellule tumorali esfoliate nelle vie respiratorie mediante esame citologico dello sputo e del lavaggio broncoalveolare (v.*), tale test non ne consente la localizzazione. Spesso le loro dimensioni sono tali da non poter essere individuati neanche con endoscopia convenzionale in luce bianca, in quanto essi non appaiono molto differenti in aspetto, consistenza e forma dalla normale mucosa.

Un altro dato diagnostico molto importante da considerare per l'efficacia della terapia è la determinazione della esatta estensione del tumore che, se non completamente eradicato, dà origine a recidive. La determinazione dell'area tumorale è attualmente basata prevalentemente su prelievi bioptici nella zona della lesione tumorale. Tale tecnica risente del fatto di essere invasiva e spesso non sufficientemente accurata dato il numero limitato di punti su cui può essere eseguita.

Sulla base di tali considerazioni, la ricerca biomedica si è indirizzata in questi anni allo sviluppo di nuove tecniche diagnostiche non invasive che consentono l'individuazione del tumore *in situ* e della sua estensione. Tra queste la spettroscopia di fluorescenza indotta da laser (LIF: *Laser Induced Fluorescence*) si presenta come una tra le più promettenti. Sebbene solo alcuni prototipi di strumentazione siano stati finora sviluppati, i risultati ottenuti sono molto incoraggianti e la loro più estesa utilizzazione è condizionata prevalentemente da una accurata determinazione su una ampia casistica sia delle proprietà di fluorescenza dei tessuti normali e tumorali che dei meccanismi di incorporazione di eventuali tracciati fluorescenti. Verranno qui di seguito descritti i meccanismi fisici sui cui tale tecnica è basata e le sue possibili utilizzazioni in campo oncologico.

### Fluorescenza

Le molecole complesse possono in generale assorbire la luce in un ampio intervallo di lunghezze d'onda che costituisce il loro spettro di assorbimento. Esse restituiscono parte della energia assorbita sotto forma di radiazione luminosa detta fluorescenza. L'andamento della intensità della emissione in funzione della lunghezza d'onda è descritto dallo spettro di fluorescenza. Tale emissione è anche caratterizzata da un tempo di vita media che dà una misura del tempo di emissione di fotoni da parte di un grande numero di molecole uguali, eccitate da un impulso di luce di durata infinitamente breve. Queste semplici definizioni consentono di evidenziare come parametri caratteristici della fluorescenza siano la sua distribuzione spettrale e la sua dinamica temporale. Tali proprietà sono fortemente influenzate dal microambiente in cui la molecola si trova e pertanto le loro alterazioni possono essere utilizzate per diagnosticare un eventuale stato patologico dei tessuti. Alternativamente, se un particolare farmaco fluorescente viene preferibilmente incorporato da un tessuto tumorale o in rapida proliferazione, il riconoscimento del suo particolare spettro di emissione consente di individuare la zona tumorale o alterata.

Su tali principi si basa dunque la diagnostica di fluorescenza. L'uso di sorgenti laser come sorgenti di eccitazione della fluorescenza e lo sviluppo tecnologico dei sistemi di rivelazione hanno fortemente potenziato tale tecnica, già utilizzata da molti anni solo in specifici settori quali l'oculistica (v. ANGIOGRAFIA RETINICA A FLUORESCENZA*), rendendola proponibile anche in campo oncologico. Molti sono gli aspetti per cui la sorgente laser risulta essere determinante rispetto alla utilizzazione di lampade: la sua elevata monocromaticità, spesso combinata con una accordabilità in lunghezza d'onda, consente di scegliere la regione spettrale di eccitazione più favorevole; il fascio laser può essere focalizzato in aree di dimensioni molto piccole (dell'ordine del μm) o convogliato in fibra ottica rendendolo utilizzabile per una indagine endoscopica; la sorgente può spesso funzionare in regime di emissione continua o impulsata.

In regime impulsato essa può fornire impulsi di durata temporale molto breve (picosecondi) a frequenze di ripetizione molto elevate (fino a 100 MHz) che possono essere utilizzati per misure di spettroscopia di fluorescenza risolta in tempo. Fino a tempi recenti erano disponibili per l'osservazione della fluorescenza solo rivelatori a singolo elemento e le informazioni sulla distribuzione spaziale della fluorescenza erano ottenibili con tecniche fotografiche (con bassa sensibilità) o analizzando l'area di interesse con una scansione a punti. Lo sviluppo di rivelatori a matrice intensificati, che forniscono immagini digitali, consente l'acquisizione di immagini in tempo reale con eccellenti livelli di sensibilità. Tali immagini inoltre possono essere manipolate mediante il calcolatore per meglio evidenziare gli aspetti diagnostici.

Come sottolineato sopra, la ricerca diagnostica si è articolata su due settori, uno rivolto allo studio della fluorescenza endogena dei tessuti, l'altro al rilevamento di particolari farmaci nelle aree patologicamente sospette. Tratteremo pertanto separatamente le due problematiche.

#### *Fluorescenza endogena o autofluorescenza*

Molti tessuti umani presentano una fluorescenza intrinseca che può essere utilizzata come strumento diagnostico. La maggior parte dei tessuti sono fatti di proteine, acidi nucleici e lipidi che contengono molecole fluorescenti. Questi fluorofori presentano delle caratteristiche spettrali ben definite ma sono sensibili a diversi fattori quali, ad es., il pH, i siti di legame, la polarità, la concentrazione ionica, etc. Alcuni di questi sono stati ben individuati e caratterizzati. Le flavine modificano il loro spettro di emissione quando si trasformano dallo stato ossidato a quello ridotto. Le riboflavine fluorescono tra 510 e 530 nm e sono parte del coenzima flavina adenina dinucleotide, che è responsabile dell'ossidoriduzione nei mitocondri. Le porfirine fluorescono tra 590 e 800 nm e spesso sono state osservate in concentrazioni più elevate in tessuti tumorali. Queste caratteriz-




Digitized by Google

zazioni sono state fatte prevalentemente a livello cellulare o su preparati istologici.

Quando le misure vengono eseguite su campioni di tessuto, la situazione si presenta molto più complessa, con uno spettro di autofluorescenza molto ampio, determinato dalla sovrapposizione degli spettri dei vari cromofori presenti. Le differenze in fluorescenza tra tessuti normali e patologici si riducono spesso a una variazione dell'intensità di emissione e solo misure accurate consentono di evidenziare modificazioni negli spettri.

Misure puntuali eseguite su campioni di polmone umano normale e canceroso con eccitazione a 514 nm presentano uno spettro di fluorescenza continuo che si estende fino a 700 nm (Tang *et al.*, 1989). Lo spettro del tessuto normale presenta due bande con picchi a 563 e 603 nm, mentre quello tumorale ha un picco a 560 nm con un profilo continuo e privo di strutture. In 11 casi di tessuti normali considerati, gli spettri sono risultati consistenti con le valutazioni patologiche in 8 casi, mentre per 10 casi di tessuti tumorali i risultati positivi sono stati 7.

Misure eseguite su campioni di mammella hanno presentato un analogo grado di affidabilità. Va comunque sottolineato che gli spettri di fluorescenza dei campioni di mammella sono differenti da quelli del polmone.

Immagini in autofluorescenza sono descritte su pezzi operatori prelevati da pazienti operati di resezione gastrica con illuminazione a 514 nm e osservazione attraverso un filtro giallo (Yang *et al.*, 1987). Le grosse aree tumorali presentano un segnale più elevato rispetto al tessuto normale mentre rimane dubbia la individuazione di piccoli tumori rispetto ad alterazioni ad es. di tipo infiammatorio.

Altri esempi come quelli citati sono riportati in letteratura (Morishima *et al.*, 1986; Harris e Werkayen, 1987) e portano a concludere che, sebbene la tecnica presenti delle notevoli potenzialità, molta ricerca di base deve essere ancora sviluppata per individuare e comprendere i meccanismi di autofluorescenza e rendere affidabile la diagnostica.

*Fluorescenza esogena*

Era noto fin dal 1940 che diverse sostanze fluorescenti, tra le quali le porfirine o le acridine, presentano un accumulo o permanenza preferenziale in tessuti tumorali o in rapida proliferazione rispetto ai tessuti normali adiacenti. Si vide, pertanto, la possibilità di rilevare le zone tumorali attraverso l'osservazione della fluorescenza di questi cromofori somministrati per via sistemica.

A causa della poca tossicità, i primi tentativi furono eseguiti con l'ematoporfirina base ottenuta dall'emoglobina. Nel 1960 Lipson *et al.* prepararono l'ematoporfirina derivato (HpD) mediante trattamento con acido acetico e solforico. Tale preparato ha migliori capacità di concentrazione nei tumori con maggiore contrasto rispetto ai tessuti normali adiacenti. L'HpD è anche un fotosensibilizzante e attivato dalla luce induce la necrosi tumorale (Dougherty *et al.*, 1978). Questo aspetto ne suggerì l'uso terapeutico che è tuttora in corso di sperimentazione in molti centri ospedalieri con risultati incoraggianti. L'uso diagnostico è invece limitato soprattutto per la complessità della strumentazione necessaria. Difatti, sebbene la tecnica in termini di principio sia semplice, l'osservazione del segnale dell'HpD è resa difficoltosa dal fatto di dover rilevare un segnale debole (piccole quantità di farmaco sono presenti nel tessuto) su un fondo costituito dall'autofluorescenza del tessuto e dalla luce diffusa dalla sorgente laser di eccitazione.

Diversi sistemi sono stati finora sviluppati per la rilevazione endoscopica in fluorescenza di tumori sia con indagine di tipo puntuale che con immagine elaborata.

Nei sistemi puntuali il laser, accordato sul picco di assorbimento della porfirina (405 nm), viene accoppiato all'endoscopio mediante una fibra ottica e la fluorescenza emessa da una piccola zona viene raccolta da un'altra fibra (Svanberg *et al.*, 1986). All'uscita di questa fibra, il segnale viene analizzato in spettro con un policromatore e un «array» di fotodiodi (1024 fotodiodi spaziati di 25 μm). Vengono valutati due punti significativi e cioè il valore al picco di emissione della porfirina e quello al picco dell'autofluorescenza e ne viene fatto il rapporto. Si è verificato come questa quantità adimensionale sia più sensibile al contrasto tra ematoporfirina e tessuto ed inoltre sia indipendente dalla distanza fibra tessuto, dalla particolare morfologia del tessuto e dalle fluttuazioni eventuali della luce laser.

Alcuni sistemi a formazione di immagine seguono il medesimo principio. Il campo endoscopico viene illuminato con luce laser a 405 nm e vengono sequenzialmente raccolte con una telecamera intensificata una immagine attraverso un filtro rosso (630-690 nm) ed una attraverso un filtro verde (Profio, 1984; Brodbeck *et al.*, 1987). Le due immagini vengono elaborate con un sistema digitale e sottratte l'una dall'altra. L'immagine elaborata viene poi registrata o mostrata sul video per la diagnosi. L'intera operazione viene ripetuta a cicli di 1/30 sec.

Un'altra analoga tecnica sfrutta invece le proprietà dello spettro di assorbimento dell'HpD (Baumgartner *et al.*, 1987). Esso infatti presenta un massimo a ≈ 405 nm ed un minimo a ≈ 470 nm, mentre il rendimento di eccitazione dell'autofluorescenza è simile alle due lunghezze d'onda. Mediante un opportuno sistema, la sorgente laser viene accordata sequenzialmente alle due lunghezze d'onda e le due distinte immagini che si ottengono vengono memorizzate e sottratte. L'autofluorescenza è circa costante mentre è variata l'intensità di emissione dell'HpD. L'immagine elaborata presenta un ottimo contrasto, evidenziando la zona tumorale rispetto al fondo.

I risultati clinici ottenuti con le tecniche descritte, sebbene relativi a un limitato numero di pazienti, hanno mostrato una buona positività diagnostica. In alcuni casi, sono tuttavia riportati sia falsi positivi che falsi negativi. Una maggiore casistica e un più approfondito studio di base potranno consentire di meglio valutare questi risultati. Il progredire della ricerca di base ha evidenziato, ad es., differenze in termini di spettro di fluorescenza dell'HpD tra adenoma, adenocarcinoma e mucosa normale dell'intestino fornendo indicazioni per una migliore diagnostica tra le forme tumorali e pretumorali (Dal Fante *et al.*, 1988). Nuovi tipi di strumentazione basati sulla discriminazione tra le differenti dinamiche temporali della fluorescenza dell'ematoporfirina e dell'autofluorescenza sono in corso di sviluppo e potrebbero consentire di migliorare l'affidabilità della diagnostica (Cubeddu *et al.*, 1988). Nuovi farmaci fluorescenti sono inoltre in corso di studio.

La fluorescenza indotta dal laser si presenta dunque come una tecnica diagnostica non invasiva di grande interesse e potenzialità sia per il grado di accuratezza nella individuazione di piccoli tumori non rilevabili con altri metodi che per il suo possibile uso anche in patologie non tumorali.

V. anche sopra, coll. 4333 e 4363.

**Bibliografia**

Baumgartner R., Fisslinger H. *et al.*, *Photochem. Photobiol.*, 1987, **46**, 759.
Brodbeck K. J., Profio E. A. *et al.*, *Medical Physics*, 1987, **14**, 637.
Cubeddu R. *et al.*, *Review of Scientific Instruments*, 1988, **59**, 2254.
Dal Fante M. *et al.*, *Lasers in Medical Science*, 1988, **3**, 165.
Dougherty T. J., Grindey G. B. *et al.*, *Cancer Research*, 1978, **38**, 2628.
Harris D. M. e Werkayen J., *Lasers in Surgery and Medicine*, 1987, **7**, 467.





Digitized by Google

Lipson R., Baldes E. *et al.*, *J. Thor. Surg.*, 1961, **42**, 623.
Morishima T., Nagashima N. *et al.*, *Cancer*, 1986, **57**, 2037.
Profio E. A., *IEEE, J. Quantum Electronics*, 1984, QE20, 1502.
Svanberg K., Kjellén E. *et al.*, *Cancer Research*, 1986, **46**, 3803.
Tang G. C., Asima Pradhan *et al.*, *Applied Optics*, 1989, **28**, 2337.
Yang Y., Yanming Y. *et al.*, *Lasers in Surgery and Medicine*, 1987, **7**, 528.

RINALDO CUBEDDU

## LASER IN INGEGNERIA GENETICA, MICROCHIRURGIA CELLULARE

Le particolari caratteristiche della radiazione laser ne fanno un potente strumento di indagine nel settore biologico e sempre più numerose emergono le possibilità di applicazione di sorgenti laser nelle tecniche convenzionali della biologia cellulare e molecolare, e quindi nell'ingegneria genetica (v.*) che queste utilizza.

La caratteristica della luce laser che viene attualmente più sfruttata in campo biologico è la coerenza spaziale (collimazione), e la conseguente alta risoluzione spaziale che, con l'uso di lenti a corta distanza focale, può raggiungere dimensioni subcellulari.

Genericamente parlando le applicazioni del laser nell'ingegneria genetica si possono raggruppare in tre categorie.

La prima categoria riguarda le *tecniche diagnostiche*. La *citofluorimetria a flusso*, una delle tecniche oggi più usate per il controllo del contenuto cellulare di DNA endogeno o inserito con tecniche di manipolazione genica, ha tratto vantaggio dall'utilizzo di un fascio laser come sorgente di eccitazione della fluorescenza: il fascio di luce costituisce l'elemento di selezione spaziale di singole cellule che possono essere caratterizzate morfologicamente e separate, e la sua intensità permette il raggiungimento di più alti livelli di sensibilità nella rivelazione (v. CITOMETRIA A FLUSSO*; v. anche sotto, col. 4461).

Una seconda importante categoria riguarda le *tecniche di analisi genetica*. La ricostruzione di una sequenza genica, che può essere costituita da milioni e milioni di basi, viene oggi affrontata mediante frammentazione enzimatica specifica (mappatura), sino ad ottenere sequenze massime di qualche decina di migliaia di basi. Questi frammenti vengono poi trattati o mediante ulteriore frammentazione con particolari reagenti chimici o attraverso la ricostruzione di una sequenza ad essi complementare, con l'uso di basi marcate con fosforo radioattivo e tali da interrompere la catena statisticamente in tutte le posizioni dove si attaccano. L'insieme di frammenti ottenuti, la cui lunghezza massima in questa fase non può superare le poche centinaia di basi, viene quindi separato nei suoi componenti mediante elettroforesi su gel e letto con tecniche autoradiografiche.

Recentemente è stata messa a punto una nuova tecnica che, con l'uso di sostanze fluorescenti specifiche come marcatori terminali delle singole basi e di un fascio laser come sorgente di eccitazione della fluorescenza, contemporaneamente evita l'uso di sostanze radioattive e consente l'automazione della fase di lettura del gel già durante l'elettroforesi, con un potere risolutivo che arriva a frammenti di circa 600 basi, suscettibile di ulteriori miglioramenti. Sono evidenti i vantaggi che da tali sistemi potranno trarre tutti gli studi di genetica classica ed ingegneria genetica, compresi i grossi progetti quali quelli relativi alla ricostruzione del genoma umano.

La terza e più importante categoria, sulla quale concentreremo la nostra attenzione, in quanto più strettamente connessa con l'ingegneria genetica, riguarda la *microchirurgia cellulare*.

Per tutti gli studi di individuazione e localizzazione genica, così come per studi di funzione e regolazione genica, vengono utilizzate tecniche di trasformazione del materiale genetico cellulare. Le prime tecniche sviluppate a questo scopo sono quelle che agiscono sul patrimonio genetico endogeno sfruttando gli effetti mutageni delle radiazioni ad alta energia, o di alcune sostanze chimiche particolari. Di sviluppo relativamente recente sono le tecniche di fusione cellulare che, sempre con l'uso di particolari sostanze chimiche o di campi elettrici, cercano di introdurre nelle cellule materiale genetico nuovo, attraverso la fusione con cellule diverse.

Tutte queste sono tecniche a carattere statistico o, in altri termini, non selettive rispetto alle cellule trasformate e al tipo di trasformazione indotta. Esse costringono dunque, a valle, ad una accurata quanto tediosa opera di selezione delle trasformazioni ritenute utili: la selezione, uno degli scogli della genetica tradizionale (incroci) risulta in un certo senso esasperata in questo caso dall'ottenimento di un numero indefinito di mutanti.

La radiazione laser, focalizzata da un normale obiettivo da microscopio, apre la strada ad una vasta gamma di nuove possibilità di micromanipolazione cellulare selettiva che, a seconda dei livelli di intensità utilizzati, può spaziare dalla spettroscopia subcellulare alla vera e propria microchirurgia cellulare. Dal punto di vista della risoluzione spaziale, nonostante le dimensioni trasversali del fascio laser nel punto focale di una lente siano date dal prodotto della divergenza del fascio (dell'ordine di qualche milliradiante) per la distanza focale della lente (dell'ordine di qualche millimetro), con un limite teorico imposto dalla semilunghezza d'onda della radiazione utilizzata, l'effetto desiderato può essere ristretto entro una regione ancora più piccola. Infatti, grazie alla distribuzione spaziale non omogenea sia dell'intensità del fascio (solitamente gaussiana), sia del materiale biologico con cui questo può selettivamente interagire (data anche la sua monocromaticità), sono state sinora raggiunte dimensioni della zona di interazione dell'ordine del decimillesimo di millimetro.

A questo punto la difficoltà di posizionare il fascio con una precisione paragonabile al potere risolutivo intrinseco di un microscopio ottico è diventato il fattore limitante, favorendo lo sviluppo di microscopi dotati di sofisticati sistemi di posizionamento computerizzato e di rilevamento ed elaborazione dell'immagine ottica. Dal punto di vista biologico le grosse potenzialità di questa tecnica richiedono invece la messa a punto e lo sviluppo di procedure di biologia cellulare e molecolare su cellule singole o su un numero limitato di cellule.

I primi esperimenti relativi all'interazione di un laser ad argon con singoli cromosomi sono stati condotti nel 1969 dal gruppo di M. W. Berns dell'Università della California, leader in questa tecnica. Da allora, tuttavia, molta strada è stata percorsa dal punto di vista sia del microfascio laser, sia del tipo e numero di esperimenti condotti.

Il sistema strumentale dell'Università della California è diventato un complesso apparato microscopico computerizzato, corredato con diverse sorgenti laser ad emissione continua, impulsata, con varie durate di impulso, sintonizzabili in lunghezza d'onda, ed è ora a disposizione di tutta la comunità scientifica (LAMP: *Laser Microbeam Program*). Sistemi più semplificati, rispetto a questo, sono stati messi a punto presso l'Università di Tokio e l'Università di Heidelberg.

Diamo dunque una breve rassegna del tipo di esperimenti sinora effettuati.

Alcuni studi sulla funzione cromosomica e sulla stabilità e riparazione cromosomica sono stati effettuati provocando, durante la mitosi, il distacco di un cromatide dal fuso mitotico e quindi la possibile mancanza di un cromosoma in una delle cellule figlie. Focalizzando il fascio laser entro la





Digitized by Google

cellula, uno specifico cromosoma può essere completamente distrutto oppure danneggiato in una sua specifica porzione: a seguito del danno prodotto sono stati evidenziati, in alcuni casi, meccanismi cellulari di mantenimento del numero cromosomico, di riparazione cromosomica, di amplificazione genica. Su cellule di mammifero in coltura è stato dimostrato che il danno prodotto dalla luce laser può essere effettivo (arresta una determinata funzione genica) ed ereditario (viene trasmesso per mitosi).

Singoli organelli mitotici (ad es. centrioli, cinetocori, microtubuli) possono essere selettivamente danneggiati al fine di individuarne l'organizzazione e la funzione durante la mitosi. Microlesioni sono state effettuate su filamenti citoplasmatici per evidenziarne il movimento. La distruzione o la lesione di singoli mitocondri è stata utilizzata per studiare la risposta morfologica, contrattile ed elettrica di cellule cardiache.

La straordinaria capacità della cellula di riparare velocemente le microlesioni provocate sulla sua membrana ha portato ad ipotizzare l'utilizzo del laser come strumento di *microperforazione* della membrana cellulare al fine di introdurre materiale genetico nuovo.

L'inserimento in una cellula di materiale genico, che può venire inglobato nel genoma cellulare con un meccanismo ancora ignoto, può essere effettuato con due metodi: chimico o manuale. Il primo, usato nello studio di tumori e oncogeni, consiste nella fagocitosi da parte della cellula del DNA precipitato in fosfato di calcio. A prescindere dal fatto che alcune cellule non vengono trasformate con questo metodo, l'elevata concentrazione delle sostanze chimiche utilizzate può danneggiare le cellule trattate e, comunque, la probabilità massima di successo nel trasferimento di DNA è di una cellula su centomila.

Il secondo metodo, di micromanipolazione, presenta due possibili varianti: la microiniezione di DNA esogeno e la semplice punturazione (*pricking*) della cellula che può acquisire da sola il DNA trasformante, contenuto nel mezzo di sospensione. Con questo metodo la probabilità di trasformazione è più alta (una cellula su mille), ma, a parte l'abilità tecnica non indifferente che viene richiesta, il numero di cellule che può essere trattato con metodo manuale è intrinsecamente limitato (dell'ordine di 3000 cellule all'ora).

Un'automatizzazione del posizionamento della cellula bersaglio e l'utilizzo di un microfascio laser per perforare la membrana, a fronte di una invariata probabilità di trasferimento (1 su 100-1000), ha consentito il trattamento di sino 1000 cellule al minuto. Gli esperimenti sinora condotti su cellule renali di ratto e cellule di fibrosarcoma umano, hanno dimostrato:

l'ingresso di materiale genico esogeno nella cellula, mediante geni che conferiscono resistenza a determinati antibiotici e successiva selezione in presenza di questi (trasformazione transiente);

l'integrazione del DNA introdotto in diverse posizioni del genoma cellulare, mediante l'utilizzo di geni sonda, successiva estrazione di DNA cellulare ed analisi con tecniche di frammentazione, elettroforesi ed autoradiografia;

l'ereditarietà dell'informazione genetica introdotta, mediante tecniche di proliferazione cellulare con formazione di colonie di cellule trasformate (trasformazione permanente).

In particolare su cellule animali si è visto che il numero di cellule effettivamente trasformate aumenta anche di un fattore 15 se il fascio laser viene focalizzato sul nucleo.

Il settore in cui la *microperforazione laser* presenta le sue maggiori potenzialità è il settore vegetale, a causa della robusta parete di materiale cellulosico di cui le cellule vegetali sono dotate oltre la membrana. La parete cellulare costituisce una vera e propria barriera per tutte le tecniche di trasformazione genetica. Per l'utilizzo dei metodi citati, chimico e manuale, così come per l'*elettroporazione* mediante campi elettrici, la parete deve essere rimossa (protoplasti) e, dopo trasformazione, fatta riformare: tuttavia questa procedura oltre a indurre spesso alterazioni somaclonali, non può essere utilizzata con alcune specie che non riescono a rigenerare la parete.

Per operare su cellule intatte, direttamente su un tessuto, è stata sviluppata una tecnica che utilizza come vettore di DNA un batterio (*Agrobacterium tumefaciens*) che, infettando il tessuto nelle zone di ferita, provoca la formazione di calli di cellule trasformate, da cui è possibile rigenerare piante trasformate. Questa tecnica tuttavia funziona solo con alcune specie, essenzialmente dicotiledoni.

Una tecnica di recente introduzione consiste nel bersagliare un tessuto vegetale con microproiettili costituiti da microsfere bagnate con la soluzione di DNA esogeno e sparate ad alta velocità con uno speciale dispositivo: passando attraverso il tessuto c'è una buona probabilità che parte del materiale genetico rimanga all'interno di alcune cellule, dalle quali si può quindi tentare di rigenerare una pianta trasformata.

Rimane ancora completamente aperto il problema della trasformazione delle specie cerealicole, di maggior impatto alimentare, quasi tutte monocotiledoni con difficoltà di rigenerazione da cellule. Un'importante prospettiva si sta aprendo oggi con la possibilità di utilizzare la tecnica laser per la trasformazione delle cellule germinali (polline, ovuli), che potrebbero poi essere utilizzate in una normale fertilizzazione *in vivo* o *in vitro*.

La fattibilità tecnica della microperforazione, con autoriparazione della lesione in alcuni secondi, è stata osservata sia su polline sia sul tubo pollinico; a seguito del trattamento il polline rimane vitale, come si è potuto osservare dal mantenimento di correnti citoplasmatiche e dalla capacità germinativa. Tuttavia la frequente estrusione di materiale citoplasmatico dalle lesioni ha evidenziato la necessità di un'accurata regolazione delle condizioni osmotiche al fine di facilitare l'ingresso di materiale genetico esogeno. L'acquisizione di DNA è stata dimostrata incubando preventivamente il polline in un mezzo ipertonico per indurre una plasmolisi (trasferimento osmotico di acqua all'esterno): in queste condizioni la microperforazione laser provoca un leggero risucchio del mezzo contenente DNA all'interno dei granuli (trasferimento meccanico), osservabile sia dal conseguente aumento di volume, sia con l'uso di DNA marcato con sostanze fluorescenti.

Un'ulteriore specifica potenzialità della microperforazione laser su cellule vegetali riguarda l'indagine genetica. Il materiale genetico delle cellule vegetali non è contenuto esclusivamente nel nucleo, ma anche in altri organelli subcellulari (cloroplasti, mitocondri). Generalmente in questi casi si tratta di DNA la cui organizzazione e regolazione sono molto simili a quelle degli organismi procariotici. L'intero apparato fotosintetico è il risultato dell'espressione e controllo di un insieme complesso di geni nucleari e cloroplastici, il cui meccanismo non è ancora noto. La microperforazione laser si presta all'introduzione genica anche nei cloroplasti: è possibile trasformare cloroplasti isolati ed iniettarli successivamente in una cellula, oppure iniettare il DNA nella cellula e provocarne il trasferimento nei cloroplasti mediante microperforazione laser di questi; quest'ultima possibilità è stata verificata con DNA marcato con sostanze fluorescenti. Utilizzando cellule fototrofiche di alghe è stato possibile dimostrare che il trattamento laser del cloroplasto non danneggia l'apparato fotosintetico: le alghe sopravvivono e crescono in colonie.

**Bibliografia**

Berns M. W. *et al.*, *Science*, 1981, **213**, 505-513.
Tsukakoshi M. *et al.*, *Appl. Phys.*, 1984, **B 35**, 135-140.
Weber G. *et al.*, *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 1988, **12**, 219-222.

MARINELLA BROGLIA





Digitized by Google

## LASER IN CITOMETRIA A FLUSSO E IN NEFELOMETRIA

**Laser in citometria a flusso**

Una parte essenziale della tecnica della citometria a flusso e della relativa strumentazione è costituita dalle sorgenti di luce. Infatti le misure citometriche si fondano essenzialmente sulla misura della luce diffusa dalle cellule e sull'uso di sostanze fluorescenti (fluorocromi) che si legano in modo specifico ai componenti cellulari. La colorazione è calibrata in modo che l'intensità della luce di fluorescenza sia proporzionale alla quantità di sostanza da determinare. Questa breve premessa mostra immediatamente l'esigenza di tre requisiti fondamentali per le sorgenti di eccitazione: molteplicità delle lunghezze d'onda, intensità e stabilità della emissione. Sono state probabilmente considerazioni di questo tipo che hanno indirizzato, fin dagli albori della citometria a flusso, la scelta del laser come sorgente di luce.

Va comunque ricordato che mentre negli U.S.A. si sviluppava un progetto di citometro a flusso commerciale basato sull'impiego del laser, in Europa procedeva parallelamente un analogo progetto che utilizzava come sorgente di luce una lampada a vapore di mercurio. Quest'ultimo progetto, pur essendo privo di alcune importanti caratteristiche, soprattutto la mancanza di un dispositivo di separazione di cellule vitali (*sorting*), possedeva alcuni requisiti, come l'economicità, la semplicità di installazione e la precisione dei risultati tali che ancora oggi vengono prodotti strumenti di questo tipo.

La scelta del tipo di laser in un citometro a flusso è dettata essenzialmente dalle caratteristiche spettrali dei fluorocromi impiegati. Dal momento che una delle prime applicazioni, e oggi forse la più diffusa, è stata la misura di immunofluorescenze di anticorpi coniugati con isotiocianato di fluoresceina (FITC), la scelta di base del laser è caduta sul laser ad argon. Infatti questo tipo di laser emette una riga assai intensa alla lunghezza d'onda di 488 nm, assai prossima al massimo di eccitazione del FITC.

In alcune applicazioni della citometria a flusso è necessario impiegare più fluorocromi sulla stessa cellula. Qualora gli spettri di eccitazione non siano compatibili con l'uso di una singola riga di eccitazione, è necessario l'impiego di due o più sorgenti di eccitazione. Alcuni strumenti sono stati quindi dotati di due laser. In genere si utilizza come seconda sorgente un laser a kripton, le cui caratteristiche di emissione sono abbastanza complementari a quello ad argon. Infatti questo laser è ricco di righe nella zona alta dello spettro e si presta quindi all'eccitazione di fluorocromi con emissione nel rosso lontano, come l'alloficocianina o il *Texas red*. In alcuni progetti più elaborati il secondo laser è costituito da un laser a colorante, generalmente rodamina 6G eccitato dalla riga a 514 nm di un laser ad argon. La banda di emissione della rodamina 6G è assai ampia, estendendosi da 550 a 650 nm. Mediante un prisma o un reticolo si possono quindi selezionare le righe spettrali più adatte all'impiego.

Più di recente, con la sempre maggiore richiesta di misure citometriche da parte di laboratori clinici, ci si è sempre più orientati verso la scelta di laser di bassa potenza e quindi economici e con limitate esigenze di alimentazione elettrica e con raffreddamento ad aria. L'uso di laser a bassa potenza, cioè con emissioni nelle righe principali di 10-50 mW, è stato reso possibile dal miglioramento delle caratteristiche ottiche della cella a flusso e da una migliore scelta dei tubi fotomoltiplicatori.

Nei citometri delle ultime generazioni vengono perciò impiegati laser a bassa potenza e con emissione limitata ad una lunghezza d'onda. Si preferisce infatti installare più di un laser di bassa potenza e con emissione ad una sola lunghezza d'onda prefissata. Si ottengono in questo modo i vantaggi della possibilità di eccitazione multipla sulla stessa cellula, dell'economicità delle sorgenti e della facilità di installazione. I tipi di laser più usati in questi citometri, che sono presenti sul mercato solo dalla fine del 1989, sono il laser ad argon, in questo caso sintonizzato per emettere la sola riga a 488 nm, con potenza di 10-15 mW, il laser elio-neon, che emette a 633 nm potenze da 1 a 50 mW e che copre quindi la regione spettrale dei fluorocromi eccitabili nel rosso, e il laser elio-cadmio, in cui l'elemento attivo è costituito dai vapori di cadmio, che emette nel blu (441 nm, 5-40 mW) e nell'ultravioletto (325 nm, 1-10 mW). Quest'ultimo laser è di particolare interesse in quanto numerosi fluorocromi sono eccitabili nella regione ultravioletta dello spettro: ricorderemo, fra gli altri, il Dapi e l'Hoechst 33342 per la determinazione del DNA e l'Indo 1, un fluorocromo che consente la misura della concentrazione di ioni calcio all'interno della cellula.

Citiamo ancora due recenti applicazioni specifiche della citometria a flusso che sono fondate sull'impiego del laser.

La prima è stata descritta da Herweijer *et al.* (1988) e fa uso di un laser ad argon con emissione di 400 mW nelle righe dell'ultravioletto per uccidere selettivamente cellule precedentemente fotoattivate. Il vantaggio di questa applicazione è quello di poter separare popolazioni cellulari con velocità assai elevata (circa 30.000 cellule al secondo contro le circa 1000 dei sistemi convenzionali) e si presta bene all'identificazione di eventi rari.

La seconda è stata proposta da Mullikin *et al.* (1988) e consiste nell'uso di un laser per creare un campo a scansione di frange (*fringe-scan*) con cui misurare oggetti di dimensioni subcellulari, quali i cromosomi. Il fascio laser viene diviso in due fasci che vengono poi fatti intersecare generando un campo di interferenza. Viene registrato il profilo di intensità dell'oggetto che attraversa il campo e le caratteristiche di fluorescenza vengono ricostruite mediante analisi di Fourier.

V. anche: CITOMETRIA A FLUSSO* e v. sopra, col. 4457.

**Laser in nefelometria**

Il laser ha trovato anche impiego nella tecnica nefelometrica. In nefelometria si misura la luce diffusa da una sospensione di particelle, analogamente alla citometria a flusso, ma non la fluorescenza. Inoltre la misura si riferisce all'intera sospensione, e non alla singola particella. Ciò rende molto meno critici i requisiti per le sorgenti di luce. Anche in nefelometria, come in citometria a flusso, esistono apparecchi dotati di sorgenti a lampada, generalmente alogena, e apparecchi dotati di laser. In quest'ultimo caso si utilizzano laser a stato solido con emissione nella banda rossa dello spettro.

**Bibliografia**

Herweijer H. *et al.*, *Cytometry*, 1988, **9**, 143.
Mullikin J. *et al.*, *Cytometry*, 1988, **9**, 111.
Salzman G. C., *Flow Cytometry: the Use of Lasers for Rapid Analysis and Separation of Single Biological Cells*, in Goldman L. ed., *The Biomedical Laser: Technology and Clinical Application*, 1981, Springer-Verlag, New York.
Shapiro H. M., *The Little Laser that Could: Application of Low Power Lasers in Clinical Flow Cytometry*, in Andreeff M. ed., *Clinical Cytometry*, 1986, New York Academy of Sciences, New York.
Shapiro H. M., *Practical Flow Cytometry*, 1988, Alan R. Liss, New York, pp. 50-62.
Wheeless L. L. jr., Kay D. B., *Optics, Light Sources, Filters and Optical Systems*, in Van Dilla M. A., Dean P. N., Laerum O. L., Melamed M. R. eds., *Flow Cytometry. Instrumentation and Data Analysis*, 1985, Academic Press, London.

GIUSEPPE STARACE





Digitized by Google

**β-LATTAMICI ANTIBIOTICI**: v. CEFALOSPORINE*; CEFAMICINE*; IMIPENEM-CILASTATINA*; β-LATTAMICI ANTIBIOTICI (VIII, 1132); PENICILLINE (XI, 1456).

## LATTOFERRINA

F. *lactoferrine*. - I. *lactoferrin*. - T. *Laktoferrin*. - S. *lactoferrin*.

La lattoferrina (LF) è una glicoproteina ferro-chelante, di p.m. 80.000, presente nei granuli specifici dei polimorfonucleati maturi. Il gene che codifica per la sintesi della LF viene attivato nelle fasi avanzate della maturazione granulocitaria. La LF diventa il principale costituente del neutrofilo maturo ove svolge un ruolo determinante nei meccanismi di difesa contro le infezioni. Il ruolo batteriostatico della LF è stato correlato con la sua elevata affinità per il ferro; in effetti, la chelazione del ferro da parte della LF viene a privare i microrganismi patogeni di un minerale essenziale per il loro accrescimento.

È noto che in corso di infiammazione, in conseguenza del rilascio dei prodotti endogranulari da parte dei granulociti, il livello plasmatico della LF tende ad aumentare. Nella sede della flogosi, per effetto di stimoli chemiotattici, i polimorfonucleati aderiscono all'endotelio vascolare, degranulano ed aggregano tra di loro. Sperimentalmente il rilascio dei granuli specifici contenenti LF da parte dei polimorfonucleati è molto rapido in risposta a stimoli chemiotattici esercitati dalla formil-metionil-leucil-fenilalanina (FMLF); ma anche concanavalina-A e forbol-miristato-acetato (FMA) sono in grado di evocare degranulazione ed aggregazione granulocitaria. L'impiego di oligopeptidi chemiotattici ha chiaramente dimostrato l'esistenza di una correlazione inversa tra motilità ed adesività dei polimorfonucleati e di una risposta biologica dose-dipendente. A basse concentrazioni l'induttore chemiotattico stimola la migrazione, a concentrazioni intermedie induce la degranulazione ed infine, a più alte concentrazioni, evoca l'aggregazione dei granulociti.

Esistono dati sperimentali che testimoniano il ruolo esercitato dalla LF nel facilitare, durante la risposta infiammatoria, l'interazione dei granulociti neutrofili con le cellule endoteliali e nel promuovere, attraverso una diminuzione della carica di superficie cellulare, la leucostasi finalizzata a trattenere i polimorfonucleati nella zona della flogosi e, infine, nell'amplificare gli effetti biologici della intera reazione infiammatoria. Con l'impiego di anticorpi anti-LF è stato possibile bloccare sperimentalmente il fenomeno dell'aggregazione granulocitaria sotto stimolo chemiotattico con FMA o FMLF, a concentrazioni in grado di indurre abitualmente il rilascio dei granuli specifici. Poiché tali anticorpi inibiscono l'aggregazione dei polimorfonucleati in risposta agli induttori chemiotattici, ma non il rilascio dei lisosomi dopo esposizione a FMLF, è altamente probabile che sia proprio la LF, e non gli altri costituenti dei granuli specifici, ad esercitare un effetto favorevole sulla adesività leucocitaria. Il fenomeno dell'aggregazione leucocitaria sembra legato ad un meccanismo di traslocazione della LF dai granuli specifici alla membrana plasmatica dei polimorfonucleati.

Infine, la LF partecipa ai processi di difesa cellulare influenzando l'attivazione del metabolismo ossidativo attraverso la formazione di derivati reattivi, in particolare i radicali idrossilici, dalla interazione dell'anione superossido e del perossido di idrogeno.

In effetti, con la degranulazione dei neutrofili si rendono disponibili numerosi sistemi ad effetto battericida quali LF, lisozima, proteine cationiche, proteasi neutre e defensine. Tali sostanze, dotate di efficacia battericida molto diversa e talora selettiva, esercitano anche un ruolo di sorveglianza o di soccorso qualora siano deficitari o comunque compromessi altri meccanismi battericidi dell'organismo.

Un deficit quantitativo di LF, talora associato a carenze anche di altri costituenti endogranulari e ad anomalie morfologiche e strutturali dei granulociti, si rende responsabile di alterazioni della chemiotassi, della adesività vascolare e dell'aggregazione granulocitaria; inoltre, riduce la capacità di risposta leucocitaria allo stimolo chemiotattico da FMLF e la produzione di radicali idrossilici in risposta alla fagocitosi. In genere, le anomalie granulari sono state associate ad abnormi segmentazioni nucleari ed a ridotta espressività, all'indagine citochimica, della fosfatasi alcalina leucocitaria.

Più oscuro ed ancora oggetto di investigazione è invece il ruolo svolto dalla LF nella regolamentazione della mielopoiesi normale e patologica. È stato prospettato per la LF un meccanismo regolatore, a *feedback* negativo, della produzione e maturazione di granulociti e macrofagi. La proteina sarebbe responsabile di una ridotta formazione di colonie granulo-macrofagiche *in vitro* attraverso un effetto inibitore della produzione di GM-CSA (*granulocyte-macrophage colony stimulating activity*) sia da monociti umani normali e leucemici che da macrofagi murini. Molti AA. ritengono che la LF sia un regolatore fisiologico della mielopoiesi in quanto concentrazioni estremamente basse di LF ($10^{-17}$ *M*) sono sufficienti per indurre una loro attività *in vitro* e per provocare una esaltazione della mielopoiesi *in vivo*, nel modello murino.

Numerosi fattori sono in grado di interferire con gli effetti *in vitro* della LF ed è probabile che alcuni di essi siano capaci di influenzare anche *in vivo* l'attività della glicoproteina. Ad es., è stato dimostrato che i metalli rame e zinco interferiscono con l'attività funzionale *in vitro* della LF saturata in ferro mediante un meccanismo di inibizione diretta sulle molecole della LF satura. Questo particolare effetto potrebbe contribuire a spiegare alcuni fenomeni osservati in patologia umana quali, ad es., l'elevato livello sierico di rame riscontrato nella malattia di Hodgkin e in alcune leucemie. Altre sostanze quali litio, corticosteroidi e lipopolisaccaridi batterici esercitano una certa influenza nella emopoiesi, sia sperimentale che *in vivo*: in particolare, il lipopolisaccaride batterico sembrerebbe provvisto di un effetto stimolante la mielopoiesi attraverso un incremento della produzione di GM-CSA e un blocco nei confronti del meccanismo inibitore a sua volta svolto dalla LF.

Tra gli altri effetti biologici della LF è stata recentemente evidenziata la capacità di indurre una ridotta produzione di prostaglandina E da parte dei monociti del sangue umano e dei macrofagi peritoneali di topo. È verosimile che anche questa attività della LF sia condizionata dalla prioritaria inibizione del fattore CSA macrofagico. L'azione della LF sarebbe rivolta essenzialmente nei confronti di una sottopopolazione monocitaria *Ia-like* positiva; tuttavia, sembra che non tutti i macrofagi leghino la LF o, per lo meno, non tutti sarebbero sensibili all'effetto inibitore della produzione di GM-CSA da parte della LF. Queste informazioni hanno una certa rilevanza nella comprensione di taluni meccanismi patologici, operanti ad es. nelle leucemie acute e croniche, ove l'effetto inibitore della LF nei riguardi del GM-CSA sembra deficitario.

Recenti esperienze su linee cellulari neoplastiche, in particolare la Bri7 (una linea cellulare umana B-linfoide) e la leucemia mieloide, hanno dimostrato una capacità stimolante della LF sulla crescita neoplastica maggiore di quella osservata con la transferrina, e che recettori di superficie, specifici per la LF e differenti da quelli per la transferrina,




Digitized by Google

sono espressi sulle cellule leucemiche mieloidi in sistemi di coltura.


**Bibliografia**

Ambruso D. R., Johnston R. B., *J. Clin. Invest.*, 1981, **67**, 352.
Bentwood B. J., Henson P. M., *J. Immunol.*, 1980, **124**, 855.
Bockenstedt L. K., Goetzl E. J., *J. Clin. Invest.*, 1980, **65**, 1372.
Boxer L. A., Yoder M., Bonsib S. *et al.*, *J. Lab. Clin. Med.*, 1979, **93**, 506.
Boxer L. A., Haak R. A., Yang H. H. *et al.*, *Clin. Res.*, 1982, **30**, 517A.
Boxer L. A., Coates T. D., Haak R. A. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1982, **7**, 404.
Breton-Gorius J., Mason D. Y., Buriot D. *et al.*, *Am. J. Pathol.*, 1980, **99**, 413.
Broxmeyer H. E., Moore M. A. S., Ralph P., *Exp. Haematol.*, 1976, **5**, 87.
Broxmeyer H. E., Smithyman A., Eger R. R. *et al.*, *J. Exp. Med.*, 1978, **148**, 1052.
Broxmeyer H. E., De Sousa M., Smithyman A. *et al.*, *Blood*, 1980, **55**, 324.
Bullen J. J., Armstrong J. A., *Immunology*, 1979, **36**, 781.
Gallin J. I., *J. Clin. Invest.*, 1980, **65**, 298.
Hashizume S., Kuroda K., Murakami H., *Biochim. Biophys. Acta*, 1983, **763**, 377.
Hrgovcie M., Tessmer C. T., Minckler T. M. *et al.*, *Cancer*, 1968, **21**, 743.
Montreuil J. Tonnelot J., Mullet S., *Biochim. Biophys. Acta*, 1960, **45**, 413.
Oseas R., Yang H. H., Baehner R. L. *et al.*, *Blood*, 1981, **57**, 939.
Pelus L. M., Broxmeyer H. E., Kurland J. *et al.*, *J. Exp. Med.*, 1979, **150**, 277.
Roiron D., Amourie M., Marvaldi J. *et al.*, *Eur. J. Biochem.*, 1989, **186**, 367.
Yamado Y., Amagasaki T., Jacobsen D. W. *et al.*, *Blood*, 1987, **70**, 264.


FRANCO AVERSA

## LAVAGGIO BRONCOALVEOLARE

F. *lavage bronchoalvéolaire.* - I. *bronchoalveolar lavage.* - T. *Bronchoalveolarspülung.* - S. *lavado broncoalveolar.*

SOMMARIO



### Definizione

Il lavaggio broncoalveolare [LBA] è una moderna tecnica di indagine che permette la raccolta di componenti cellulari e solubili dal compartimento bronchioloalveolare mediante inoculo e riaspirazione di soluzioni fisiologiche all'interno dei rami bronchiali più distali.

Il LBA viene attuato in corso di esame broncoscopico eseguito con broncoscopio a fibre ottiche dopo averne posizionato l'estremità, il cui diametro è di 4-8 mm, all'imbocco di un bronco di terza o quarta generazione. Per motivi di drenaggio gravitazionale e facilità di manovra, i segmenti lavati, a meno di specifiche indicazioni, sono il mediale del lobo medio o il lingulare. È importante sottolineare la differenza esistente tra LBA e lavaggio bronchiale (LB), metodica quest'ultima da lungo tempo impiegata per la diagnosi delle neoplasie bronchiali, che però si limita a raccogliere materiale cellulare dalle prime vie aeree per mezzo dell'inoculo e riaspirazione di pochi millilitri di soluzione fisiologica (v. BRONCOSCOPIA*).

### Tecnica del lavaggio broncoalveolare (LBA)

Il soggetto viene premedicato con 0,5 mg di atropina e 10 mg di diazepam i.m. al fine di ridurre la secrezione mucosa, la riflessia e l'ansia. L'anestesia locale viene eseguita o con aerosol di lidocaina al 2% o con mepivacaina oppure con una compressa di tetracaina al 4% da sciogliere in bocca.

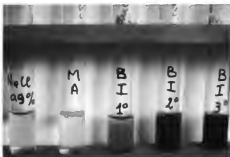



Fig. 1. Liquidi di lavaggio alveolare. La provetta all'estrema sinistra contiene soluzione fisiologica. La seconda provetta da sinistra contiene il primo liquido di lavaggio di un soggetto non fumatore; notare la schiuma persistente dovuta al surfattante alveolare; le altre provette contengono i tre boli successivi del liquido di lavaggio di un fumatore di circa 30 sigarette al dì. Da notare, oltre alla colorazione progressivamente sempre più scura dei tre campioni, la pressoché totale assenza di schiuma dovuta alla presenza di scarso surfattante, alterato dal tabagismo.

Il fibrobroncoscopio, introdotto per via nasale o transorale, viene posizionato all'imbocco del bronco segmentario voluto; tramite l'apposito canale viene inoculata una soluzione fisiologica sterile a 37 °C, in quantità che varia da 100 a 300 ml e anche più, suddivisa in boli da 20 a 100 ml ciascuno, a seconda degli AA. (fig. 1).

Ogni bolo viene immediatamente riaspirato (non esiste un preciso tempo di attesa) ed analizzato separatamente dagli altri. In particolare il primo campione sembra essere più rappresentativo della situazione bronchiale che non di quella alveolare. L'esame del liquido di lavaggio deve avvenire entro il più breve tempo possibile (entro 30 min o 2 h se mantenuto a +4 °C). I liquidi riaspirati, schiumeggianti per la presenza di surfattante, vengono misurati per valutare la percentuale di recupero (60-70%, nei soggetti normali; 10-40%, in quelli affetti da enfisema o da broncopneumopatia cronica ostruttiva).

Prelevata una minima parte per la conta delle cellule totali con camera di Bürker, i liquidi riaspirati sono filtrati con una semplice garza di cotone per togliere residui grossolani di muco, aggregati di cellule bronchiali e parte del surfattante schiumoso e centrifugati per separare la frazione corpuscolata dal sopranatante acellulare. Quest'ultimo viene poi suddiviso in aliquote minori, in parte congelate, per le analisi successive. Il sedimento corpuscolato viene risospeso in terreni di coltura ed utilizzato per gli studi morfologico-funzionali delle popolazioni cellulari degli spazi bronchioloalveolari.

Il LBA come metodica di indagine offre diversi vantaggi: facile esecuzione, ripetibilità, scarsa invasività con basso rischio di complicanze. Rari rantoli sono udibili in corrispondenza dell'area polmonare «lavata» per 3-4 ore dopo l'esame; stridore laringeo e lieve broncospasmo possono complicare l'anestesia locale; nel 10-50% dei pazienti si può sviluppare una reazione febbrile, quasi mai da infezione bensì da pirogeni. Poiché la superficie alveolare «lavata» è all'incirca 100 volte più estesa di quella delle vie aeree distali all'estremità del fibrobroncoscopio, il liquido di LBA, a differenza di quello di lavaggio bronchiale, è sicuramente rappresentativo della situazione della superficie alveolare.





Digitized by Google

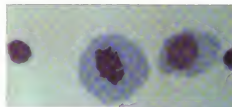



Fig. 2. Cellule da lavaggio alveolare di soggetto non fumatore. Due linfociti e due macrofagi a forte ingrandimento con citoplasma caratteristicamente eosinofilo, omogeneo e privo di inclusioni (1000 ×; colorazione May-Grünwald-Giemsa).

La tecnica di esecuzione del LBA non è ancora ben uniformata; esistono perciò vari problemi riguardanti la valutazione e le modalità di espressione dei risultati.

Nelle tabb. I e II vengono riportati, secondo vari AA. e con diverse modalità, i valori di riferimento dei parametri studiati in soggetti sani, non fumatori e fumatori; in questi ultimi il recupero della parte corpuscolata può essere 4-5 volte maggiore (figg. 2-4). Nel soggetto normale predominano i macrofagi alveolari (MA), che costituiscono l'80-90% delle cellule recuperate e sono dotati di recettori di superficie per il C3b e per l'Fc delle IgG. I linfociti rappresentano il 7-12% delle cellule totali: di questi il 5-10% sono di tipo B e il 70-80% di tipo T (CD3+), suddivisi in *helper/inducer* CD4+ (circa il 50%) e *suppressor/citotoxic* CD8+ (circa il 30%); il 7% sono *natural-killer* e pressappoco il 5% non viene tipizzato. Il rapporto CD4/CD8 ($T_H/T_S$) è normalmente 1,5-2, simile a quello del sangue. Nei soggetti sani sono rari i globuli bianchi neutrofili, basofili ed eosinofili ($\leq$ 1%).

Poiché nella quantizzazione della parte non corpuscolata la variabilità del recupero è da taluni considerata causa di errore, si preferisce in genere concentrare il liquido di LBA ed esprimere i risultati ottenuti o come quantità totale di materiale recuperato o come rapporto della sostanza in esame con parametri di riferimento (tab. I).

Nei soggetti normali come indice di permeabilità della barriera ematoalveolare si usa quasi sempre l'albumina, molecola di dimensioni relativamente piccole e di esclusiva sintesi epatica.

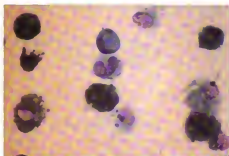



Fig. 3. Cellule da lavaggio alveolare di soggetto fumatore (30 sigarette/*die*). Macrofagi che hanno fagocitato granuli di polvere e surfattante alterato (colorazione May-Grünwald-Giemsa).

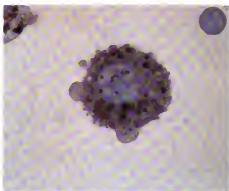



Fig. 4. Macrofago e linfocito da lavaggio alveolare di soggetto fumatore. Il macrofago ha abbondantemente fagocitato particelle antracotiche e fosfolipidi del surfattante alterato dal fumo di sigaretta; (1000 ×; colorazione col Sudan Nero specifico per i lipidi).

**TAB. I. PARAMETRI DI RIFERIMENTO RILEVATI NEI LIQUIDI DI LAVAGGIO BRONCOALVEOLARE DI SOGGETTI SANI VOLONTARI, NON FUMATORI E FUMATORI**

| | Non fumatori | | | | | | Fumatori | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Reynolds 1974 | Warr 1977 | Low 1978 | Harf 1979 | Catena 1980 | Velluti 1989 | Reynolds 1974 | Warr 1977 | Low 1978 | Catena 1980 | Velluti 1989 |
| Inoculi × ml | 5 × 50 | 5 × 50 | 4 × 60 | 4 × 50 | 4 × 50 | 3 × 50 | 5 × 50 | 5 × 50 | 4 × 60 | 4 × 50 | 3 × 50 |
| N. soggetti | 5 | 36 | 14 | 14 | 7 | 19 | — | 19 | 12 | 11 | 20 |
| Età media | 20 | 25 | 30 | — | — | 39 | 21 | 25 | 28,5 | — | 42 |
| Cellule totali × $10^6$ | 11,7 | 17,8 | — | — | — | 21,8 | 91,6 | 71,5 | — | — | 37,3 |
| Macrofagi × $10^6$ | 10,3 | 13 | — | — | — | 19,6 | 84,9 | 68,6 | — | — | 34,5 |
| Linfociti × $10^6$ | 1,1 | 3,7 | — | — | — | 2,7 | 2,7 | 4,6 | — | — | 2,2 |
| Neutrofili × $10^4$ | 20 | — | — | — | — | 27,4 | 348 | — | — | — | 51 |
| Albumina/prot. totali | — | 0,39 | 0,29 | 0,20 | — | 0,18 | — | 0,45 | 0,26 | — | 0,24 |
| IgG/albumina | 0,12 | 0,34 | 0,20 | 0,24 | 0,38 | 0,17 | 0,32 | 0,53 | 0,26 | 0,42 | 0,35 |
| IgA/albumina | 0,72 | 0,42 | — | 0.21 | 0,21 | 0,03 | 0,51 | 0,43 | — | 0,18 | 0,024 |





Digitized by Google

TAB. II. PARAMETRI DI RIFERIMENTO RILEVATI NEI LIQUIDI DI LAVAGGIO BRONCOALVEOLARE DI SOGGETTI SANI VOLONTARI
(Confronto tra non fumatori e fumatori e analisi secondo le diverse modalità di espressione dei risultati; valori medi ± deviazione standard)

| | Non fumatori | Fumatori | P |
|---|---|---|---|
| Casi | 19 | 20 | n.s. |
| Età media | 39 ± 19 | 42 ± 13 | n.s. |
| Fluido recuperato % | 65 ± 10 | 55 ± 10 | < 0,01 |
| Cellule totali × $10^6$ | 21,8 ± 9,7 | 37,3 ± 19,3 | < 0,001 |
| Macrofagi % | 87,0 ± 6,9 | 92,9 ± 3,8 | < 0,001 |
| Linfociti % | 11,6 ± 6,4 | 5,6 ± 2,9 | < 0,001 |
| Neutrofili % | 1,3 ± 1,5 | 1,3 ± 1,3 | n.s. |
| Eosinofili % | 0,2 ± 0,3 | 0,3 ± 0,3 | n.s. |
| Basofili % | 0,04 ± 0,09 | 0,04 ± 0,11 | n.s. |
| Fluido recuperato (ml) | 97 ± 16 | 83 ± 15 | < 0,01 |
| Cellule totali/ml × $10^3$ | 227 ± 104 | 444 ± 193 | < 0,001 |
| Macrofagi/ml × $10^3$ | 204 ± 95 | 410 ± 175 | < 0,001 |
| Linfociti/ml × $10^3$ | 27 ± 21 | 26 ± 21 | n.s. |
| Neutrofili/ml × $10^3$ | 2,8 ± 2,9 | 6,1 ± 7,1 | n.s. |
| Proteine totali mg/dl | 12,5 ± 4,2 | 13,8 ± 4,6 | n.s. |
| Albumina mg/dl | 3,8 ± 2,0 | 5,1 ± 2,1 | n.s. |
| IgG mg/dl | 0,57 ± 0,54 | 1,57 ± 0,86 | < 0,001 |
| IgA mg/dl | 0,10 ± 0,05 | 0,16 ± 0,13 | n.s. |
| α-1-AT mg/dl | 0,08 ± 0,06 | 0,12 ± 0,09 | n.s. |
| L-ACE U./ml | 4,1 ± 2,7 | 3,4 ± 2,5 | n.s. |
| AFA U./ml | 3,4 ± 2,8 | 7,6 ± 6,9 | < 0,02 |
| Albumina % | 18,4 ± 9,5 | 24,4 ± 9,9 | n.s. |
| IgG % | 2,4 ± 2,6 | 7,5 ± 4,1 | < 0,01 |
| IgA % | 0,5 ± 0,3 | 0,7 ± 0,6 | n.s. |
| α-1-AT % | 0,3 ± 0,3 | 0,5 ± 0,4 | n.s. |
| IgG/albumina | 0,17 ± 0,22 | 0,35 ± 0,22 | < 0,02 |
| IgA/albumina | 0,034 ± 0,033 | 0,024 ± 0,025 | n.s. |
| AFA/prot. totali | 0,08 ± 0,23 | 0,52 ± 0,47 | < 0,01 |

I risultati sono espressi sia in percentuale che in numero assoluto per quanto riguarda il liquido recuperato e le cellule e in mg per 100 ml e in percentuale rispetto alle proteine totali per quel che riguarda albumina, immunoglobuline e alfa$_1$-antitripsina. Nelle ultime 3 righe della tabella, IgG, IgA e AFA (fosfatasi alcalina) sono rapportate all'albumina e alle proteine totali come fanno gli AA. americani e francesi.
n.s. = non significativo.

Studi eseguiti con *markers* esogeni (come il blu di metilene aggiunto in determinata concentrazione alla soluzione fisiologica usata per il lavaggio) o endogeni (come l'urea) hanno cercato di valutare l'entità del fattore di diluizione introdotto dal LBA sui fluidi alveolari; i risultati sono però tutt'ora discordanti. Nella tab. II vengono espressi sia in percentuale che in numero assoluto la quantità di cellule e la concentrazione delle molecole più importanti valutate nel nostro laboratorio nei soggetti normali.

È da ricordare infine che gli anticorpi monoclonali (MoAb) trovano largo impiego nello studio della componente linfocitaria e macrofagica del liquido di LBA per l'identificazione di antigeni di membrana, più o meno correlati allo stato funzionale della cellula nel normale ed in varie patologie. Così il LBA dei sarcoidosici contiene una popolazione di linfociti prevalentemente di tipo CD4, a funzione *helper*, con un aumento, alla superficie, dei *markers* di attivazione come gli antigeni HLA-DR (identificati mediante gli MoAb RFDR) ed i recettori per l'interleuchina 2, evidenziati dall'MoAb anti TAC+, diretto contro la glicoproteina alfa dell'Ag CD25, correlato alla proliferazione cellulare ed alla risposta della cellula T a vari stimoli.

I macrofagi alveolari degli stessi soggetti esprimono, in proporzioni aumentate, le caratteristiche fenotipiche, normalmente separate, sia delle cellule dendritiche (identificate mediante l'MoAb RFD1 diretto contro un antigene associato al MHC di classe II) che dei macrofagi maturi ad attività fagocitica (MoAb RFD7). Si sta cercando di rapportare tali reperti, ancora ristretti all'ambito dei laboratori di ricerca, con lo stadio di attività della malattia.

Infine con l'uso degli MoAb si tenta di caratterizzare meglio quelle interstiziopatie polmonari (alveolite allergica estrinseca, collagenosi, silicosi, istiocitosi X, AIDS, pneumopatie da farmaci) che presentano una prevalenza di linfociti CD8+, popolazione cellulare piuttosto eterogenea sia per le caratteristiche fenotipiche di membrana che per l'attività funzionale (cellule NK, LAK, ADCC).

Va infine ricordato che l'anticorpo monoclonale OKT6 serve all'identificazione di un antigene presente sulle cellule di Langherans della cute ed in oltre il 5-6% dei macrofagi alveolari di soggetti con istiocitosi X (v.*). Tale reperto ha valore diagnostico.

Nella tab. III sono elencate le sostanze che si possono dosare nel liquido di LBA. Per i valori di normalità i risultati fanno riferimento a soggetti di entrambi i sessi, sani, giovani, non fumatori e fumatori. Non sono state prese




Digitized by Google

**TAB. III. COMPONENTI DELLA PARTE ACELLULARE DEL LIQUIDO DI LBA**
(da Reynolds, 1984, modificata)

| | |
|---|---|
| **Albumina** | |
| **Transferrina** | |
| **Proteine immunologiche** | *Immunoglobuline* |
| Di sintesi locale e/o da aumentata permeabilità della barriera emato-alveolare | IgA: IgA dimeriche 11S, con componente secretoria ed il frammento J (90%); IgA monomeriche (10%)<br>IgG: IgG1 (65%); IgG2 (28%); IgG3 (4%); IgG4 (3%) |
| Scarse | IgE<br>IgM |
| | *Componenti del sistema del complemento* |
| | Fattore B del sistema properdinico, C3, C4, C5, C6 (di provenienza plasmatica e di sintesi locale da macrofagi alveolari e da fibroblasti) |
| | *Interleuchine* (sintesi macrofagica e linfocitaria) |
| | *Lattoferrina* |
| **Prodotti dell'epitelio bronchiale** | Frammento secretorio libero<br>CEA<br>Cheratina<br>Glicoproteine del muco |
| **Albumina** | |
| **Proteine strutturali** | Fibronectina<br>Laminina |
| **Enzimi** | Attivatore della precallicreina<br>Attivatore del fattore XII<br>Collagenasi, elastasi<br>β-glicuronidasi<br>ACE (*Angiotensin Converting Enzyme*)<br>Fosfatasi acida, alcalina |
| **Inibitori di enzimi** | Alfa$_1$-antitripsina<br>Inattivatore a basso p. m. della tripsina<br>Alfa$_2$-macroglobulina |
| **Prodotti di secrezione macrofagica** | lisozima, ACE, LTB, PAF, prostaglandine, CSF |
| **Sostanze ad azione antiossidante** | catalasi, glutatione, ceruloplasmina, Vit. A, metionina |
| **Lipidi e proteine del surfattante** | |
| **Elettroliti, glicoso e urea** | |

ancora sistematicamente in esame altre variabili, come l'età e la razza.

**Indicazioni del LBA e profili nelle varie patologie respiratorie**

Il LBA in passato veniva utilizzato per ottenere, in corso di broncoscopia, campioni per colture microbiche o per indagini citologiche in pazienti incapaci di espettorare o per rimuovere secrezioni o altre sostanze dal compartimento broncoalveolare (proteinosi alveolare, stato di male asmatico, fibrosi cistica, inalazione acuta di composti tossici). Sebbene attualmente l'uso del LBA sia ancora agli inizi con risultati solamente descrittivi per molte patologie polmonari (tab. IV), tuttavia in caso di granuloma eosinofilo (istiocitosi X) e di proteinosi alveolare, dove viene usato anche a scopo terapeutico, il LBA ha sostituito, nella diagnosi, la biopsia «a cielo aperto».

Le emorragie intraparenchimali soprattutto in malati trombocitopenici sono facilmente diagnosticate dalla presenza di macrofagi carichi di emosiderina e gli infiltrati leucemici dal reperto di blasti.

Nei pazienti affetti da sindrome da immunodeficienza acquisita il LBA fornisce informazioni estremamente utili riguardo sia alle caratteristiche del disordine immunologico di base (interazioni linfociti-macrofagi, linfochine, immunoglobuline) sia al tipo di eventuale infezione opportunistica, giungendo alla diagnosi, in oltre l'80% dei casi, degli infiltrati parenchimali da *Pneumocystis carinii*, da micobatteri, da legionelle, da funghi e da virus. Non sostituisce tuttavia la biopsia in caso di sarcoma di Kaposi e di linfoma del polmone.

Il LBA può avere un ruolo importante nella diagnosi delle neoplasie primitive e secondarie del polmone, ma soprattutto nello studio del microambiente che le circonda e dei fenomeni che ne precedono l'insorgenza (ad es. mediante l'analisi di proteine di provenienza tumorale e la identificazione di sostanze qualitativamente e quantitativamente alterate, di produzione locale, nei soggetti a rischio).

Attualmente il LBA viene utilizzato solo a scopo di ricerca nell'asma bronchiale, nell'enfisema, nelle pneumoconiosi e nell'ARDS per lo studio dei mediatori chimici e la comprensione dei meccanismi di danno e di riparazione polmonare.

Crescente è l'interesse dell'impiego del LBA per documentare la natura e l'intensità dell'esposizione ambientale a fibre e a polveri: il numero delle particelle di silice e dei corpi dell'asbesto è correlato al rischio occupazionale ma non è considerato indice di malattia.

Il LBA è stato ampiamente impiegato nell'ultimo decennio nei pazienti affetti da interstiziopatie polmonari diffuse, soprattutto sarcoidosi, alveolite allergica estrinseca (AAE) e fibrosi polmonare idiopatica (FPI). I lavori pubblicati dimostrano che in tali patologie esiste una discrepanza fra le popolazioni linfocitarie presenti nel sangue periferico e quelle del LBA, mentre c'è una concordanza tra queste e le cellule isolate da frammenti bioptici digeriti di polmone.

Nella sarcoidosi infatti i linfociti T sono nel sangue ridotti di numero ed inattivati; nel liquido di LBA sono aumentati (CD4/CD8 = 3/7), per espansione delle sottopopolazioni *helper*, ed attivati (aumentata produzione di IL-2 e di IL-2R). Nell'alveolite allergica estrinseca (AAE) circa il 60% delle cellule ottenute con il lavaggio è rappresentato da linfociti, con inversione del rapporto CD4/CD8 e numerosi grandi mastociti. La presenza del 10-20% di granulociti neutrofili e del 3% di eosinofili è ricorrente nelle fibrosi polmonari idiopatiche (FPI) e nelle interstiziopatie polmonari in corso di malattie del collagene. In queste patologie il numero totale delle cellule, la percentuale dei neutrofili e degli eosinofili e la attività fosfatasica alcalina extracellulare sono considerati indici della intensità del processo fibrosante e di prognosi severa; l'aumento dei linfociti e dei macrofagi corrisponde viceversa ad una maggiore sensibilità ai corticosteroidi.

Ancora preliminari sono i dati riguardanti il monitoraggio della terapia corticosteroidea mediante LBA eseguito ad intervalli di 3-6 mesi. Manca infatti una intesa sui parametri da seguire per valutare la gravità della malattia e la riaccensione dopo interruzione delle cure e se gli stessi debbano o no essere individualizzati. La maggior parte dei lavori è stata condotta in soggetti sarcoidosici: dai risultati pubblicati emerge che la percentuale dei T linfociti non si





Digitized by Google

TAB. IV. PROFILO DEL LIQUIDO DI LBA NELLE VARIE PATOLOGIE RESPIRATORIE

| | |
|---|---|
| **Sarcoidosi** (figg. 5 e 6) | a) *Alveolite* > T linfociti CD4; > *Th/Ts*; > IL-2; > IL-2R > γ-INF<br>> macrofagi alveolari attivati (secrezione di ACE, capacità di presentare l'Ag)<br>> plasmacellule (> IgG; > IgA)<br>> risposta ai corticosteroidi se la percentuale dei T linfociti è superiore al 35%<br>> albumina<br>b) *Fibrosi* > neutrofili; > eosinofili; > basofili |
| **Alveolite allergica estrinseca** (figg. 7 e 8) | > linfociti (60-70% delle cellule; > T linfociti CD8+ e dei linfociti *killer*; inversione *Th/Ts* di significato oscuro presente anche nei soggetti esposti all'Ag, ma asintomatici)<br>presenza di grandi mastociti ± degranulati<br>macrofagi alveolari «schiumosi»<br>> IgG, IgA, IgM; IgG/Alb > 1 (per sintesi locale di Ig)<br>surfattante qualitativamente alterato<br>possibilità di riconoscere l'Ag specifico attraverso il dosaggio della relativa precipitina (locale); lo stimolo specifico in pazienti già sensibilizzati determina una flogosi acuta con presenza di neutrofili; ripristino della alveolite linfocitaria dopo alcuni giorni |
| **Fibrosi polmonare idiopatica** (fig. 9) | alveolite con > dei neutrofili; > macrofagi alveolari attivati (> fattori di crescita per i fibroblasti, > fibronectina, > chemiotassine)<br>> plasmacellule produttrici di IgG; > istamina<br>> eosinofili (valore associato, secondo alcuni AA., alla tendenza all'*honey-combing* ed a scarsa risposta ai corticosteroidi)<br>> linfociti (CD4+): oltre il 14% sarebbe indice di flogosi dei setti e di sensibilità ai corticosteroidi; sarebbe correlato alla presenza di complessi immuni |
| **Neoplasie polmonari** | possibilità di ottenere campioni citologici<br>dosaggio di Ag tumorali di produzione locale: CEA (> anche nei fumatori), calcitonina, creatininchinasi BB, DNA. Maggiore è il numero di Ag dosati maggiore è la specificità<br>> IgA nell'area vicina alla neoplasia con < del frammento secretorio<br>> cheratina (indice di metaplasia)<br>< attività *killer* dei T linfociti<br>< *killing* citotossico macrofagico<br>(Il LBA permette la diagnosi differenziale in corso di neoplasia con le emorragie polmonari, la tossicità polmonare da farmaci, le polmoniti da radiazioni, le polmoniti aspecifiche, l'edema polmonare cardiogeno e non) |
| **Pneumoconiosi da silicio, da asbesto** (figg. 10 e 11), **da berillio** | > neutrofili; > macrofagi alveolari; > linfociti<br>macrofagi alveolari spesso contenenti particelle di polveri inorganiche visibili alla luce polarizzata («coniofori»)<br>presenza di pneumociti di II tipo dopo esposizione a silice<br>> proteine nella fase acuta, < nella stabilizzazione («polmone asciutto»)<br>(La presenza di particelle di polveri o di fibre nel liquido di LBA non fa diagnosi di malattia) |
| **Berilliosi** | >> linfociti T CD4+ (rapporto *Th/Ts* > 10)<br>stimolazione antigenica specifica *in vitro* |
| **Polmonite eosinofila** | > eosinofili<br>> proteine totali |
| **Deficit di alfa$_1$-antitripsina** | assenza di alfa$_1$-antitripsina nel liquido di LBA<br>(Possibilità di monitorare la terapia sostitutiva aerosolica mediante LBA) |
| **Emosiderosi polmonare idiopatica** | LBA emorragico<br>> neutrofili e linfociti<br>> macrofagi alveolari con accumulo di emosiderina («siderociti») |
| **Collagenopatie** | in alcuni casi > dei neutrofili ed eosinofili, dei linfociti (CD8+) in altri<br>presenza di autoanticorpi nel LBA<br>> neutrofili; > enzimi proteolitici; > elastasi; < surfattante (di composizione alterata); > albumina |
| **Granuloma eosinofilo (istiocitosi X)** (figg. 12 e 13) | presenza dei corpi X nei macrofagi alveolari (cosiddette «cellule dell'istiocitosi X»), dei quali circa il 20-30% reagisce con l'anticorpo monoclonale OKT6 (CD1+) in modo crociato con le cellule di Langherans della cute<br>(il LBA è diagnostico)<br>> eosinofili e cellule schiumose: incostanti |
| **Proteinosi alveolare polmonare** (figg. 14-16) | macrofagi alveolari ripieni di grossi fagolisosomi contenenti surfattante alterato, PAS positivo con < capacità di *killing*<br>notevoli quantità di materiale proteinaceo extracellulare, PAS positivo<br>il LBA è diagnostico e terapeutico |
| **Tubercolosi** (fig. 17) | a) *cavitaria*: >> neutrofili, >> proteine totali, IgG/Alb > 1, BK+<br>b) *essudativa*: > neutrofili, > linfociti, *Th/Ts* > moderatamente; BK+<br>c) *miliare*: > linfociti, *Th/TS* > 2 < 4 |

*segue*

*segue* **TAB. IV.**

| | |
|---|---|
| **AIDS** (figg. 18 e 19) | HIV libero, nei linfociti, nel 12-58% dei macrofagi alveolari<br>< Th/Ts (> linfociti CD8+ ma soprattutto << linfociti CD4+) soprattutto in caso di polmonite interstiziale linfocitaria<br>> plasmacellule; > IgG<br>identificazione di infezioni opportuniste: *Pneumocystis carinii* (presenza di *foamy alveolar casts*: valore diagnostico nell'83-100% dei casi), micobatteri (*Mycobacterium avium-intracellulare*), virus (CMV, *Herpes*), miceti e batteri (*Legionella*) |
| **Asma bronchiale** | quadro non diagnostico<br>studio dei mediatori biochimici e degli eventi cellulari (> linfociti, > neutrofili, > eosinofili) dopo esposizione ad Ag specifici |
| **Fibrosi cistica** | presenza di essudato<br>> IgG2<br>> IgG frammentate dall'elastasi proveniente dallo *Pseudomonas*<br>macrofagi alveolari normali, ma poco attivi poiché è assente l'azione opsonizzante delle IgG |
| **Alveoliti da farmaci** | farmaci sovente coinvolti: ciclofosfamide, bleomicina, amiodarone, sali d'oro, nitrofurantoina, etc.<br>T linfociti che rispondono all'Ag<br>dimostrazione di accumulo di iodio nei macrofagi alveolari nell'alveolite da amiodarone<br>alveolite linfocitaria tipo alveolite allergica estrinseca se meccanismo di ipersensibilità<br>alveolite granulocitaria tipo fibrosi polmonare idiopatica se meccanismo citotossico |

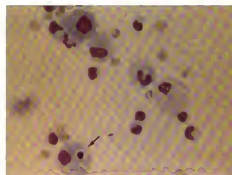



Fig. 5. Cellule da lavaggio alveolare di soggetto con sarcoidosi. Veduta di insieme a medio ingrandimento: sei macrofagi uno dei quali ha fagocitato un linfocito (*freccia*), numerosi linfociti attivati, alcune emazie (400 ×; colorazione May-Grünwald-Giemsa).

Fig. 6. Cellule da lavaggio alveolare di sarcoidosi. Macrofago attivato e vari linfociti con nucleo voluminoso ed inciso come frequentemente si nota nei linfociti T attivati (1000 ×; colorazione May-Grünwald-Giemsa).

Fig. 7. Cellule da lavaggio alveolare di soggetto con alveolite allergica estrinseca. Veduta di insieme a medio ingrandimento: tre macrofagi due dei quali con numerosi vacuoli (macrofagi schiumosi), numerosi linfociti, tre basofili (400 ×; colorazione May-Grünwald-Giemsa).

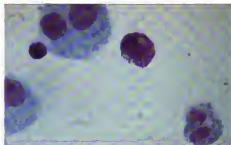



Fig. 8. Cellule da lavaggio alveolare di alveolite allergica estrinseca. Due macrofagi, uno dei quali con due nuclei, un linfocito adeso al macrofago, un basofilo e un eosinofilo (1000 ×; colorazione May-Grünwald-Giemsa).



Digitized by Google

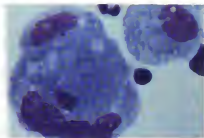



Fig. 9. Cellule da lavaggio alveolare in corso di fibrosi polmonare idiopatica. Si osservano un macrofago mono-nucleato a citoplasma basofilo, un linfocita e un polimorfunucleato neutrofilo; un grosso macrofago con 5 nuclei e numerosi vacuoli, contenente il nucleo di un polimorfonucleato fagocitato. Aspetti di autofagismo sono presenti frequentemente nella alveolite fibrosante diffusa criptogenetica e nelle interstiziopatie da collagenopatia (1000 ×; colorazione May-Grünwald-Giemsa).

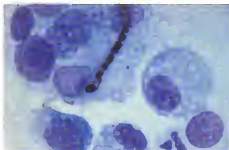



Fig. 10. Cellule da lavaggio alveolare di soggetto esposto all'inalazione di asbesto. Macrofagi attivati, un polimorfonucleato neutrofilo e una cellula gigante plurinucleata che ha fagocitato un «corpuscolo dell'asbesto» con il tipico periodismo emosiderinico (1000 ×; colorazione May-Grünwald-Giemsa).

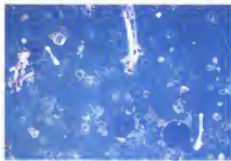



Fig. 11. Asbestosi. Preparato osservato al microscopio polarizzatore. Sono bene evidenti i corpuscoli dell'asbesto birifrangenti e la birifrangenza del citoplasma di numerosi macrofagi che hanno fagocitato composti dell'asbesto.

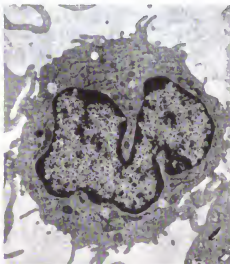



Fig. 12. Macrofago da lavaggio alveolare di soggetto con istiocitosi X al microscopio elettronico (11.500 ×). (*Osservazione Fornieri e Velluti*).

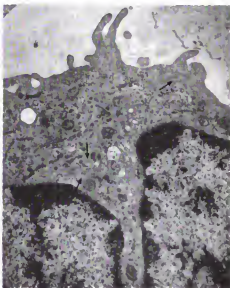



Fig. 13. Istiocitosi X: particolare a maggior ingrandimento della fig. 12. Nel citoplasma compreso nella insenatura del nucleo si intravedono le caratteristiche formazioni «a racchetta» della istiocitosi X (*frecce*). (*Osservazione Fornieri e Velluti*) (23.000 ×).





Digitized by Google

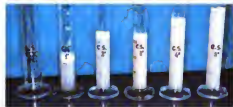



Fig. 14. A sinistra cilindro con soluzione fisiologica; gli altri cilindri contengono liquido di lavaggio alveolare da soggetto con proteinosi alveolare polmonare. I campioni sono più di tre perché a scopo terapeutico si cerca di allontanare quanto più materiale è possibile. L'aspetto torbido è dovuto alla grande quantità di fosfolipidi, lipoproteine e lipopolisaccaridi contenuta negli alveoli ed è patognomonico di questa affezione.

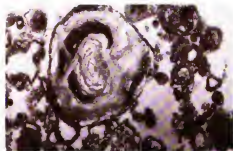



Fig. 15. «Corpi osmiofili» al microscopio elettronico, presenti in notevole quantità nel liquido di lavaggio alveolare di polmoni con proteinosi alveolare polmonare. Sono costituiti da surfattante e prodotti, forse in eccesso, dalle cellule alveolari tipo 2 e patognomonici di questa affezione (15.000 ×). (*Osservazione Fornieri, Capelli e Velluti*).

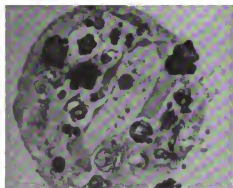



Fig. 16. Macrofago da lavaggio alveolare di soggetto con proteinosi alveolare osservato al microscopio elettronico; infarcito di «corpi osmiofili» fagocitati; l'aspetto è patognomonico di questa affezione (10.000 ×). (*Osservazione Volpi, Capelli e Velluti*).

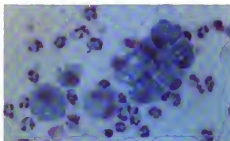



Fig. 17. Cellule da lavaggio alveolare di soggetto con tbc essudativa. Veduta di insieme a medio ingrandimento: alcuni macrofagi con numerosi grossi vacuoli (macrofagi «cribrosi» caratteristici delle alveoliti infettive) e numerosi polimorfonucleati neutrofili. (400 ×; colorazione May-Grünwald-Giemsa).

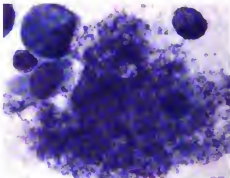



Fig. 18. Ammasso di forme cistiche di *Pneumocystis carinii* (con alcuni macrofagi e linfociti) da liquido di lavaggio alveolare di soggetto con AIDS, colorate in modo non elettivo con aspetto «schiumoso» (*foam casts*) (1000 ×; colorazione May-Grünwald-Giemsa). (*Osservazione Sarti e Velluti*).

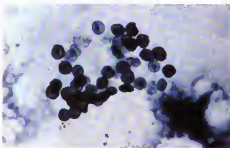



Fig. 19. Alcune forme cistiche di *Pneumocystis carinii* da liquido di lavaggio alveolare di soggetto con AIDS, colorate elettivamente. (1000 ×; impregnazione argentica secondo Gomori-Grocco). (*Osservazione Sarti e Velluti*).





Digitized by Google

modifica durante trattamento corticosteroideo mentre si abbassa il rapporto CD4/CD8. Un indice più sensibile, ma per ora assai indaginoso, potrebbe considerarsi il dosaggio delle linfochine prodotte dai linfociti T-*helper*.

Il LBA costituisce infine un ottimo mezzo per studiare la biodisponibilità nel compartimento alveolare dei farmaci, ad es. gli antibiotici, e per monitorare in futuro la terapia sostitutiva per via aerosolica nei pazienti affetti da deficit di alfa$_1$-antitripsina.

In conclusione il LBA è andato diffondendosi rapidamente negli ultimi anni tanto da essere applicato, soprattutto a scopo di ricerca, in quasi tutte le malattie dell'apparato respiratorio. Parallelamente sono aumentate le indicazioni al suo uso clinico. Nonostante la grande mole di dati pubblicati ogni anno, le metodiche di esecuzione e analisi dei vari laboratori rendono ancora difficoltosi i confronti dei risultati ottenuti e richiedono una maggiore standardizzazione e coordinamento operativi.

Nelle figg. 5-19 sono riportati quadri citologici di patologie del polmone.

**Bibliografia**


Campbell D. A., Poulter L. W., Bois R. M., *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1985, **132**, 1300.
Capelli A., Richeldi L., Prandi E., Azzolini L., Capelli O., Livi E., Bonucchi M. E., Velluti G., *Ther. Infect. Dis.*, 1987, **11** (314), 183.
Capelli A., Capelli O., Azzolini L. *et al.*, *Chemioterapia*, 1988, **7** (2), 89.
Cherniack R. M. (coordinator), *Bronchoalveolar Lavage Costituent*, in *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1990, **141**: Suppl. number 5, S-169 - S-202, *bibl.*
Chollet S., Soler P., Dournovo P. *et al.*, *Am. J. Pathol.*, 1984, **115**, 225.
Costabel U., Bross K. J., Marxen J., Matthys H., *Chest*, 1984, **85**, 514.
Crystal R. G., Gadek J. E., Ferrans V. J. *et al.*, *Am. J. Med.*, 1981, **70**, 542.
Goldstein N., Lippmann M. L., Goldberg S. K. *et al.*, *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1985, **132**, 60.
Haslam P. L., Turton C. W. G., Lukoszek J., Turner-Warwick M., *Thorax*, 1980, **35**, 328.
Keogh B. A., Crystal R. G., *Chronic interstitial lung disease*, in Simmons D. H. ed., *Current Pulmonology*, vol. 3, 1981, Wiley, New York, p. 237.
Lusuardi M., Azzolini L., Braghiroli A. *et al.*, *Lotta TBC Mal. Polm. Soc.*, 1986, **56** (1), 70.
Randall K. Y., Rankin J. A., Naegel G. P. *et al.*, *Ann. Intern. Med.*, 1985, **103**, 522.
Reynolds H. Y., *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1987, **135**, 250-263, *bibl.*
Reynolds H. Y., *Bronchoalveolar Lavage*, in Murray J. F., Nadel J. A. eds., *Textbook of Respiratory Medicine*, 1988, Saunders, Philadelphia, p. 597-610.
Rossi G. A., *Eur. J. Respir. Dis.*, 1986, **69**, 293.
Saltini C., Spurzem J. R., Lee J. J. *et al.*, *J. Clin. Invest.*, 1986, **77**, 1962.
Semenzato G. *et al.*, *Am. Rev. Resp. Dis.*, 1985, **132**, 400.
Semenzato G., Cipriani A., Manca G., *Malattie polmonari*, in Romagnani S., Moretta L. eds., *Immunologia e immunopatologia*, 1989, USES, Firenze.
Soler P., Chollet-Martin S., Mazin F. *et al.*, *Rare cells in bronchoalveolar lavages*, in Crystal R. G., Reynolds H. Y., *Int. Conference on Bronchoalveolar Lavage*, Columbia MD, May 16-18, 1984, p. 31.
Stanley M. W., Michelle J. H., Conrad I., *Diagn. Cytopathol.*, 1988, **4** (2), 113.
Stover D. E., Zaman M. B., Haidu S. I. *et al.*, *Ann. Intern. Med.*, 1984, **101**, 1.
Turner-Warwick M., McAllister W., Lawrence R. *et al.*, *Thorax*, 1986, **41**, 903.
Velluti G., Capelli O., Azzolini L. *et al.*, *Lotta TBC Mal. Polm. Soc.*, 1986, **56** (1), 36.
Velluti G., Capelli O., Lusuardi M., Braghiroli A., Azzolini L., *Respiration*, 1984, **46**, 1.
Velluti G., Capelli O., Braghiroli A. *et al.*, *Patogenesi, diagnosi e monitoraggio delle granulomatosi polmonari*, in *Atti Congresso Naz. Società Ital. Pneumologia, Roma, 7-10 novembre 1983*, Minerva Medica, Roma, p. 153.
Velluti G., Capelli O., Lusuardi M., *Respiration*, 1983, **44**, 403.


GIORGIO VELLUTI, MARISA COVI E ORESTE CAPELLI

## LAVAGGIO PERITONEALE

F. *lavage péritonéal*. - I. *peritoneal lavage*. - T. *Peritonealspülung*. - S. *lavado peritoneal*.

SOMMARIO



### Introduzione

L'idea dell'estrazione dal corpo umano di «umori» nocivi è molto antica ed ha trovato e trova numerose applicazioni che vanno dalla preistorica trapanazione cranica alle moderne tecniche diagnostiche e terapeutiche che consentono accessi cavitari e viscerali praticamente illimitati. La cavità peritoneale appare privilegiata da questo punto di vista, in quanto, da una parte, essa è sede di numerosissime affezioni che si esprimono con un versamento e, dall'altra, è capace di riassorbimento attivo e di reazione flogistica. Ciò spiega l'utilizzazione della via endoperitoneale per la somministrazione di alcuni farmaci quali, ad es., l'insulina e gli antiblastici, e per il trattamento dialitico dell'insufficienza renale.

Tali presupposti spiegano anche la diffusa pratica del lavaggio peritoneale sia a scopo diagnostico (conferma della presenza e verifica della natura di un versamento) che terapeutico (estrazione di materiale patologico, in genere facilitata dall'azione meccanica del lavaggio).

### Lavaggio peritoneale diagnostico

*Modalità di esecuzione, indicazioni e controindicazioni*

Il l. p. diagnostico consiste: nel posizionare in cavità peritoneale un sottile catetere traforato munito di guida metallica appuntita; in una successiva *aspirazione*, eseguita a più riprese, modificando la posizione del catetere; nell'*introduzione* di 500-1000 ml di soluzione fisiologica a temperatura corporea e, infine, dopo aver fatto assumere al paziente varie posture, nell'*aspirazione per caduta* del liquido di lavaggio eventualmente commisto al materiale costituente il versamento endoperitoneale.

La tecnica di esecuzione è semplice: a paziente supino (la vescica deve essere vuota) si pratica un'iniezione anestetica (preferibilmente con l'aggiunta di adrenalina) due dita sotto l'ombelico, sulla linea mediana. Si incide poi la cute e si perfora con cautela la parete addominale fino a superare il peritoneo parietale, si sfila il mandrino metallico e si affonda il catetere. Le controindicazioni relative o, se si vuole, le condizioni che richiedono particolare attenzione, sono rappresentate da precedenti interventi chirurgici, dalle coagulopatie e dall'occlusione intestinale. La morbosità legata alla procedura (emorragie, perforazioni intestinali) è del tutto accettabile, purché si segua una tecnica corretta. Le indicazioni attuali al l. p. diagnostico sono soprattutto: il sospetto emoperitoneo dopo trauma chiuso addominale, l'accertamento di severità della pancreatite acuta e l'esame citologico dell'aspirato in campo oncologico.

*Diagnosi di emoperitoneo*

L'aspirazione di materiale ematico dalla cavità peritoneale è altamente indicativa di emoperitoneo. La quota di falsi positivi è infatti molto bassa (2% circa) ed è imputabile alla puntura accidentale di un vaso mesenterico o al sanguinamento dalla parete. La percentuale di falsi negativi è variamente stimata in letteratura con valori che vanno dal 2 al 25%.





Digitized by Google

Questi dati potrebbero mettere in discussione l'utilità della metodica: in realtà però il problema è stato superato dalla ormai universale diffusione di tecniche diagnostiche non invasive come la T.A.C. e, soprattutto, l'ecografia. Gli ultrasuoni, oltre ad essere privi di controindicazioni, di basso costo e a consentire controlli ravvicinati, permettono di evidenziare versamenti peritoneali a partire dai 150 ml. Inoltre, se sono presenti coaguli, l'ecografia è in grado di diagnosticarne la natura. Se a ciò si aggiunge anche la possibilità offerta dalle indagini strumentali di dimostrare il tipo e la sede delle lesioni che hanno provocato l'emoperitoneo, si capisce come oggi il ricorso al l. p. diagnostico sia, nonostante la sua sostanziale validità, limitato solamente ai casi in cui non sia possibile per qualsiasi motivo fare affidamento sulle tecniche diagnostiche per immagini.

*Diagnosi di severità della pancreatite acuta*

L'ampio spettro delle manifestazioni cliniche della pancreatite acuta rende difficile, come è noto, precisare all'esordio la severità reale della malattia e selezionare i pazienti da sottoporre ad indagini invasive e a trattamento intensivo.

Tra i vari criteri clinici, laboratoristici e clinicolaboratoristici adottati a questo scopo si segnala anche il l. p., proposto negli anni '70 da McMahon. Dopo l'inserimento del catetere peritoneale secondo la tecnica già descritta, si esegue una aspirazione dell'eventuale liquido libero e si lava la cavità peritoneale secondo l'abituale procedura. L'aspirazione di più di 20 ml di versamento libero ad alto contenuto di amilasi, oppure di una qualsiasi quantità di liquido scuro o, ancora, la raccolta dopo lavaggio di liquido scuro (da confrontare con una apposita scala colorimetrica) sarebbero in grado di diagnosticare la severità della pancreatite con un'accuratezza prossima all'80%. Il metodo non ha valore predittivo nei confronti delle complicazioni tardive (pseudocisti o ascessi), ma si limita a rilevare solo la gravità attuale o imminente. In ogni modo, il test andrebbe riservato ai pazienti con impegno clinico evidente (shock intenso, dolore, addome difficilmente trattabile). Va infine ricordato come i propugnatori della metodica, in caso di positività del test, propongano di lasciare il catetere peritoneale in sede e di proseguire per 48 o più ore con un l. p. terapeutico (v. sotto).

Una valutazione critica del l. p. diagnostico nella pancreatite acuta non può prescindere da alcune considerazioni pratiche che riguardano essenzialmente le indicazioni al trattamento intensivo e l'indicazione chirurgica in tale condizione morbosa. In particolare, visto che la scelta chirurgica non dipende dalla severità clinica all'esordio e considerato che i pazienti con pancreatite clinicamente severa vengono prudenzialmente (e saggiamente!) comunque sottoposti a monitoraggio ed a terapia intensiva, l'utilità pratica del l. p. a scopo diagnostico-prognostico pare limitata. Questo è ancora più vero se si tiene conto che un'accuratezza del tutto sovrapponibile si può ottenere con i consueti indici clinico-laboratoristici e che la diagnosi di severità si avvale oggi soprattutto della dimostrazione strumentale (T.A.C., ecografia) di necrosi pancreatica e del dosaggio di alcuni *markers* bioumorali (proteina C reattiva, fosfolipasi $A_2$, metaboliti della tripsina e del complemento).

**Lavaggio peritoneale terapeutico**

In ambito chirurgico, per l. p. terapeutico si intende l'introduzione di liquidi, medicati o non, nella cavità peritoneale attraverso un drenaggio. Il l. p. per antonomasia, tuttavia, è quello praticato nel trattamento della peritonite diffusa e della pancreatite acuta. L'obiettivo di questa procedura terapeutica consiste essenzialmente nell'allontanare

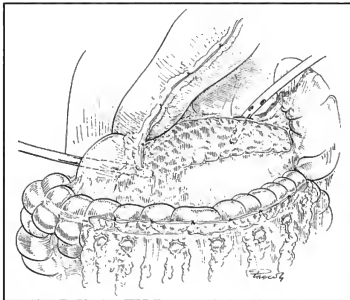
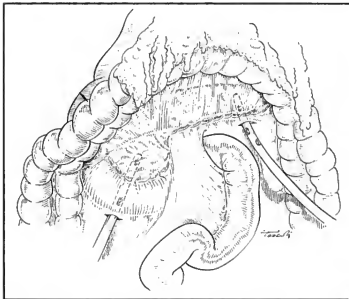



Fig. 1. Trattamento della pancreatite acuta severa: drenaggi superiori retroperitoneali. (*Da Pederzoli, Bassi et. al., Surgery Gynecology and Obstetric, 1990*).





Digitized by Google

Fig. 2. Trattamento della pancreatite acuta severa: drenaggi inferiori retroperitoneali. (*Da Pederzoli, Bassi et al., Surgery Gynecology and Obstetric, 1990*).

dalla cavità peritoneale nel primo caso il liquido infetto libero e, nel secondo, le sostanze tossiche e vasoattive (derivanti dalla autodigestione enzimatica del pancreas) che, assorbite dal peritoneo, sostengono in gran parte le manifestazioni sistemiche della malattia.

Mentre nel trattamento delle peritoniti il l. p. è metodica da tempo adottata, le prime segnalazioni sui risultati ottenuti nel trattamento della pancreatite acuta risalgono alla seconda metà degli anni '60: in quei lavori, ed in quelli apparsi negli anni '70, si sottolineavano i vantaggi in termini di miglioramento soggettivo e clinico nonché la ridotta mortalità precoce, senza peraltro che la mortalità tardiva venisse significativamente modificata. Gli studi randomizzati e controllati degli anni '80 hanno poi indotto a ridurre notevolmente gli entusiasmi, non avendo messo in luce alcun significativo vantaggio né in termini di mortalità né di morbosità. Queste sperimentazioni sono inoltre state criticate o per l'insufficiente stratificazione dei pazienti studiati, o, infine, perché il trattamento era istituito a troppo lunga distanza dall'esordio della malattia. Attualmente la metodica è praticamente abbandonata. In realtà l'analisi dei risultati sperimentali conferma alcuni limiti teorici della tecnica: essendo infatti la pancreatite acuta una malattia a prevalente estrinsecazione retroperitoneale, deve essere il retroperitoneo e non la cavità peritoneale il logico obiettivo di qualsiasi manovra, chirurgica e non, a intento evacuativo.

È proprio formulando questa obiezione che nei primi anni '70 presso la Clinica Chirurgica di Verona, si è iniziato a sperimentare nell'animale e poi ad applicare nell'uomo una metodica oggi internazionalmente denominata «REDL» (drenaggio-lavaggio retroendoperitoneale). In pratica essa prevede l'esposizione chirurgica del pancreas mediante apertura della capsula, manovra di Kocher e mobilizzazione della coda. A tutto ciò (che — si noti bene — mette ampiamente in comunicazione il retroperitoneo con il peritoneo) segue la inserzione dei drenaggi anteriori e posteriori alla ghiandola per l'entrata e la raccolta reflua dei liquidi di lavaggio (figg. 1 e 2). Nel postoperatorio si perfonde quotidianamente il retroperitoneo (ed il comunicante peritoneo) con 8-10 l di soluzione ipertonica e/o fisiologica con l'aggiunta di aprotinina (un milione U.I./500 ml) o, più recentemente, di gabesato mesilato, e, se necessario, antibiotici. I risultati ottenuti negli anni '80 sono molto buoni, con una mortalità globale in pazienti selezionati inferiore al 10%. La stessa tecnica è inoltre applicabile nel campo delle complicanze settiche tardive della pancreatite acuta, quali, tipicamente, le pseudocisti infette e gli ascessi pancreatici.

In conclusione, si può affermare che a differenza del l. p. diagnostico, oggi adottato molto più raramente che in passato a causa dell'affermarsi di metodiche più accurate e meno invasive, il l. p. terapeutico conserva alcune indicazioni ben precise limitate ad alcune particolari condizioni morbose.

**Bibliografia**


Bassi C., Vesentini S. *et al.*, *World J. Surg.*, 1990, **14**, 50.

Beger H. G., Büchler M., *Acute Pancreatitis*, 1987, Springer, Berlin, Heidelberg.

Glazer G., Ranson J. H. C., *Acute Pancreatitis*, 1988, Baillière Tindall, London.

Ihse I., Evander A. *et al.*, *A Controlled Randomized Study on the Value of Peritoneal Lavage in Acute Pancreatitis*, in Hollender L. F. eds., *Controversies in Acute Pancreatitis*, 1982, Springer, New York, pp. 200-206.

Majer A. D., McMahon M. J. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1985, **312**, 399.

Oreskovich M. R., Carrico C. J., *Trauma: Management of the Acutely Injured Patient*, in Sabiston D. C. ed., *Textbook of Surgery*, 1986, Saunders, Philadelphia.

Pederzoli P., Bassi C. *et al.*, *Surg. Gynecol. Obstet.*, 1990, **170**, 197.

Root H. D., Hauser C. W. *et al.*, *Surgery*, 1965, **57**, 633.


PAOLO PEDERZOLI, SERGIO VESENTINI E CLAUDIO BASSI





Digitized by Google

## LAVORO, IGIENE E MEDICINA DEL [v. vol. VIII, col. 1212]

SOMMARIO



### Introduzione

La patologia professionale in questi ultimi anni ha cambiato aspetto fondamentalmente per due motivi: innanzitutto per il netto miglioramento nelle condizioni igienicosanitarie in cui il lavoro oggi, rispetto a ieri, si svolge; in secondo luogo per la più attenta e consapevole tutela sanitaria di cui il lavoratore è oggetto.

Gran parte delle malattie professionali «tipiche» o «tradizionali», spesso ad andamento acuto o subacuto, legate a condizioni ambientali-tecnologiche che superavano il «limite di tollerabilità» hanno raffreddato il loro carattere e assunto sembianze simili o sovrapponibili per molti aspetti a quelle che, anche se non professionali, hanno in comune con queste una origine «ambientale»: ad es., la bronchite cronica e i tumori. Alcune sono addirittura scomparse, specie le forme ad andamento acuto, per mutamenti tecnici intervenuti in alcune lavorazioni o per eliminazione di alcune sostanze chimiche tossiche. Con questo non si vuol dire che la patologia professionale oggi è scomparsa, ma che ha perso quelle sembianze caratteristiche delle forme «classiche» per assumere quel carattere cronicodegenerativo che è proprio delle malattie oggi più frequenti come causa di malattia o di morte nei paesi industrializzati.

Si sono ridotte in numero e gravità le pneumoconiosi (la classica silicosi soprattutto) che fino agli anni '60 rappresentavano la più comune malattia professionale a carico dell'apparato respiratorio. Hanno preso il loro posto, anche se non con pari incidenza, le malattie allergiche di questo stesso apparato, quali l'asma, per l'uso sempre più esteso, come prodotto primo lavorato o come prodotto di scarto, di sostanze con carattere di allergeni o apteni e assumono sempre maggiore importanza, e per il numero sempre crescente e per la ricerca di base che essi esigono, i tumori.

In una trattazione che intenda attenersi a un aggiornamento rispetto a quanto è stato esposto 10 anni fa, nella II edizione, ci limiteremo quindi a questi due capitoli che nel quadro generale della patologia professionale hanno assunto prevalente importanza.

### Malattie professionali di tipo allergico

*Asma professionale*

Oggi sappiamo che esistono molteplici fattori di rischio che possono determinare un'asma bronchiale e che intervengono con meccanismi diversi a seconda sia della loro struttura che della tecnica di impiego. Studi sulla prevalenza della malattia forniscono risultati diversi a seconda della provenienza professionale della casistica e della metodologia con cui è stata raccolta: le più recenti dimostrano una incidenza che varia dal 2% della popolazione generale come negli U.S.A., al 15% in Giappone in una popolazione operaia diffusamente esposta a polveri di cedro rosso, al 30% degli operai esposti ad allergeni animali, al 40% degli esposti a farina di grano e al 70%, infine, punta massima che si raggiunge tra gli operai che impiegano derivati del *Bacillus subtilis* (detersivi biologici).

Le lavorazioni a maggior rischio allergogeno appaiono quelle dei verniciatori di mobili, per l'uso di vernici poliuretaniche, dei falegnami, degli addetti ai mulini e dei panettieri per l'inalazione di polveri di legno e di farina.

In quanto ai meccanismi responsabili dell'asma bronchiale professionale essi sono diversi, spesso interagenti tra loro, in quanto le stesse sostanze possono indurre fenomeni diversi a seconda della modalità di inalazione o di contatto o perché esiste una esposizione contemporanea a sostanze e prodotti che agiscono con modalità differenti.

In sostanza, la patogenesi dell'asma professionale può avere meccanismo allergico, in quanto il soggetto è atopico e perché la sostanza inalata è di per sé in grado di produrre IgE: è questo il caso dei sali di platino o degli enzimi derivati da *Bacillus subtilis*, o perché è in grado di determinare iperreattività bronchiale con meccanismo farmacologico (blocco parziale dell'acetilcolinesterasi), come verosimilmente avviene con l'assorbimento di isocianati.

È infine da aggiungere che l'asma professionale può manifestarsi con la più classica forma di tipo «immediato» o con quella «ritardata». Quest'ultima, che per gravità e persistenza si trasforma in «asma perenne» con maggiore facilità di altre, si osserva con maggiore frequenza dopo prolungata esposizione a isocianati o a cedro rosso.

*Alveoliti allergiche estrinseche*

Altra forma di patologia polmonare su base allergica, la più nota e diffusa, è il *farmer's lung* o polmone del contadino, cui si sono aggiunte più recentemente altre forme, quali la alveolite degli allevatori di uccelli o di coltivatori di funghi e altre di minore frequenza.

Si tratta in sostanza di una polmonite interstiziale (denominazione più comune in lingua anglosassone) e cioè della reazione da parte di cellule immunoattive del tessuto di sostegno bronchioloalveolare nei confronti di complessi immuni, formati da antigene (micropolispore o polveri organiche di origine animale o vegetale), anticorpo (IgG) e complemento, precipitanti come complesso immune nelle sedi terminali del polmone. Nella forma acuta i sintomi sono febbrili e similinfluenzali, nella forma ripetuta e irreversibile l'alveolite diventa fibrosa, dispnoicizzante e infine cianotica. Nella gran parte dei casi la malattia riconosce una etiologia professionale.

Il polmone del contadino, la forma di gran lunga più frequente nelle nostre zone più a nord e quindi più umide, si presenta nel personale addetto alla fienagione, alla conservazione del prodotto, alla distribuzione del foraggio nelle stalle, tutte operazioni che rimuovono micropolispore.

*Patologia cutanea di natura professionale-allergica*

Le malattie cutanee da cause di lavoro (ortoergiche o allergiche) costituiscono complessivamente l'entità maggiore tra le malattie professionali: oltre il 50% di quelle denunciate e riconosciute dal punto di vista medicolegale. Prevalgono in assoluto le forme «da contatto» (80-90%, con prevalenza assoluta di forme di tipo allergico). La sensibilizzazione è di tipo ritardato o cellulomediata. Gli allergeni più comuni nell'ambiente lavorativo sono i seguenti: metalli (cromo, nichel, cobalto), materie plastiche o gomma, balsami e oli essenziali, pesticidi; oli industriali, legni e piante (mansonia), farmaci (penicillina, streptomicina, gentamicina), cosmetici.

### Carcinomi professionali

La ricerca sul cancro si è notevolmente sviluppata in questi ultimi anni per due ragioni: innanzitutto perché si tratta di



Digitized by Google

una forma morbosa che diviene sempre più frequente e come causa di malattia e come causa di morte (il che non di rado coincide), tanto da raggiungere oggi il secondo posto nella classifica della mortalità in tutto il mondo industrializzato; in secondo luogo perché la ricerca della sua etiologia ha fornito preziose indicazioni soprattutto in vista di una sua possibile prevenzione.

I tumori professionali si distinguono da quelli comuni per due particolari connotati: da un lato per la comparsa, con eccezionale frequenza, di tumori *rari* in una popolazione operaia sottoposta a rischio oncogeno (ad es.: l'angiosarcoma epatico in addetti alla lavorazione del cloruro di vinile, o il mesotelioma pleurico in soggetti esposti ad asbesto), da un altro per l'eccezionale frequenza con cui tumori di aspetto comune compaiono in soggetti esposti a operazioni industriali rare (frequenza di cancro del polmone in addetti alla produzione di *bis*-clorometiletere).

Del resto la prima segnalazione di un tumore di possibile natura professionale corrisponde al secondo esempio che abbiamo posto: quello cioè della inusuale frequenza con cui un cancro della cute (scroto) apparve a un ricercatore, Percival Pott, in giovani spazzacamini. L'osservazione fu fatta nel 1775 e 150 anni dopo attraverso una lunga serie di esperimenti sull'animale fu addebitata alla pece, e cioè a idrocarburi policiclici aromatici, la causa chimica di questo carcinoma. Si può quindi affermare che questa osservazione dette l'avvio alla ricerca del cancro come possibile risultato di un impatto ambientale e quindi, in alcuni casi, professionale.

Le numerose ricerche epidemiologiche finora condotte portano a stimare che i tumori di origine ambientale raggiungano il 70-90% del totale (con il termine lato di «ambientale» va inteso anche quanto legato allo stile di vita ivi compreso l'inquinante per eccellenza e cioè il fumo di sigaretta). In quanto alla quota legata al lavoro essa varia nelle diverse stime, e con una inevitabile approssimazione, tra il 4 e il 10% di ogni tipo di cancro. Anche se si tratta di una percentuale relativamente modesta (del totale), va comunque sottolineato che i tumori professionali, al contrario degli altri, o della maggior parte degli altri la cui etiologia è per la più parte sconosciuta, possono essere prevenibili, purché vengano mutati il tipo di lavoro e le sostanze chimiche adoperate.

Da anni si inseguono le cause del cancro umano per raggiungere questo scopo: la prevenzione primaria. La sede in cui questa ricerca ha preso maggiore sviluppo è la IARC di Lione (Agenzia Internazionale di Ricerca sul Cancro). Con il metodo epidemiologico (lo studio della incidenza del cancro nell'uomo) sono state esaminate, fino a oggi, le conseguenze della esposizione a 120 sostanze chimiche o pro-

**TAB. I. VALUTAZIONE RIASSUNTIVA DEL RUOLO CANCEROGENO PER L'UOMO DEI COMPOSTI CHIMICI E DEI PROCESSI INDUSTRIALI TRATTATI NELLE MONOGRAFIE IARC (VOLUMI DA 1 A 29) PER I QUALI ERANO DISPONIBILI DATI NELL'UOMO. EVIDENZA NELL'UOMO: SUFFICIENTE**

| Composto chimico, procedimento industriale o settore produttivo | Evidenza nell'uomo | Evidenza nell'animale | Evidenza di attività, test a breve termine |
|---|---|---|---|
| 4-aminobifenile | Sufficiente | Sufficiente | Sufficiente |
| Analgesici, miscele contenenti fenacetina | Sufficiente | Limitata | Mancanza dati |
| Arsenico, alcuni composti | Sufficiente | Inadeguata | Limitata |
| Asbesto | Sufficiente | Sufficiente | Inadeguata |
| Aureomicina® (clortetraciclina), produzione | Sufficiente | — | — |
| Azatioprina | Sufficiente | Limitata | Sufficiente |
| Benzene | Sufficiente | Limitata | Limitata |
| Benzidina | Sufficiente | Sufficiente | Sufficiente |
| N,N-*bis*(2-cloroetil)-2-naftilammina | Sufficiente | Limitata | Limitata |
| *Bis*-clorometiletere e clorometilmetiletere (tecnico) | Sufficiente | Sufficiente | Limitata |
| 1,4-butanediolo dimetase sulfonate (busulfano) | Sufficiente | Limitata | Sufficiente |
| Chemioterapia per linfomi (compreso MOPP) | Sufficiente | — | Inadeguata |
| Ciclofosfamide | Sufficiente | Sufficiente | Sufficiente |
| Clorambucile | Sufficiente | Sufficiente | Sufficiente |
| Cromo (Cr) e alcuni composti | Sufficiente | Sufficiente | Sufficiente (Cr esavalente) Inadeguata (Cr trivalente) |
| Ematite, estrazione in sottosuolo (con esposizione a radon) | Sufficiente | — | — |
| Estrogeni: dietilstilbestrolo | Sufficiente | Sufficiente | Inadeguata |
| Estrogeni e progestinici: estrogeni coniugati | Sufficiente | Inadeguata | Inadeguata |
| Fuliggine, catrame, oli minerali | Sufficiente | Sufficiente | — |
| Industrie: | | | |
| calzature (alcune mansioni) | | | |
| carpenteria e falegnameria | Sufficiente | — | — |
| dei mobili | Sufficiente | — | — |
| della gomma (alcune mansioni) | Sufficiente | — | — |
| Melphalan | Sufficiente | Sufficiente | Sufficiente |
| Metossalene con terapia U.V. A (PUVA) | Sufficiente | Sufficiente | Sufficiente |
| Mostarda gas | Sufficiente | Limitata | Sufficiente |
| 2-naftilammina | Sufficiente | Sufficiente | Sufficiente |
| Nichel, raffinazione | Sufficiente | — | — |
| Produzione alcol isopropilico (procedimento con acidi forti) | Sufficiente | — | — |
| Treosulfan | Sufficiente | Mancanza dati | Inadeguata |
| Vinilcloruro | Sufficiente | Sufficiente | Sufficiente |



Digitized by Google

**TAB. II. VALUTAZIONE RIASSUNTIVA DEL RUOLO CANCEROGENO PER L'UOMO DEI COMPOSTI CHIMICI E DEI PROCESSI INDUSTRIALI TRATTATI NELLE MONOGRAFIE IARC (VOLUMI DA 1 A 29) PER I QUALI ERANO DISPONIBILI DATI NELL'UOMO. EVIDENZA NELL'UOMO: LIMITATA**

| Composto chimico, procedimento industriale o settore produttivo | Evidenza nell'uomo | Evidenza nell'animale | Evidenza di attività, test a breve termine |
|---|---|---|---|
| Acrilonitrile | Limitata | Sufficiente | Sufficiente |
| Aflatossina | Limitata | Sufficiente | Sufficiente |
| Analgesici: | | | |
| fenacetina | Limitata | Sufficiente | Limitata |
| Aureomicina® | Limitata | Limitata | Sufficiente |
| Berillio e composti | Limitata | Sufficiente | Inadeguata |
| Cadmio e composti | Limitata | Sufficiente | Inadeguata |
| Cloramfenicolo | Limitata | Inadeguata | Inadeguata |
| Clorofenoli (esposizione professionale) | Limitata | — | — |
| Dietilsolfato | Limitata | Sufficiente | Sufficiente |
| Estrogeni: dienoestrolo | Limitata | Inadeguata | Inadeguata |
| Estrogeni e progestinici: assunzione contraccettivi orali | Limitata | — | Inadeguata |
| contraccettivi orali sequenziali | Limitata | — | — |
| Fenitoina | Limitata | Limitata | Inadeguata |
| Fenossiacetico acido, erbicidi (esposizione professionale) | Limitata | — | — |
| Magenta (produzione) | Limitata | — | — |
| Nichel e alcuni composti | Limitata | Sufficiente | Inadeguata |
| Ossimetolone | Limitata | Mancanza dati | Mancanza dati |

cessi chimici e sono state testate nell'animale 7000 sostanze chimiche, 1500 delle quali sono risultate cancerogene. Tuttavia un esame più approfondito ha dimostrato la incertezza di molti studi; così che in conclusione sono state sufficientemente studiate nell'esperimento sull'animale 3500 sostanze chimiche con risultato positivo (cancerogeno) in 750 di esse.

Il risultato complessivo della revisione, sia epidemiologica che sperimentale, condotta dalla IARC è contenuto in 29 volumi. Nelle tabb. I e II è contenuta la valutazione riassuntiva del ruolo cancerogeno per l'uomo dei composti chimici e dei processi industriali esaminati in quelle monografie.

*Legislazione dei tumori professionali*

In Italia per la prevenzione delle sostanze carcinogene professionali esistono:

1) normativa di prevenzione contro i rischi derivanti dall'impiego delle amine aromatiche. Circolare del Ministero del lavoro, 1979: amine aromatiche. Per 3 diversi gruppi di amine vengono consigliati misure tecniche e controlli sanitari.

2) Legge 5 marzo 1963, n. 245, limitazione dell'impiego del benzolo e suoi omologhi nelle attività lavorative (G.U. 21 marzo 1963, n. 77): benzene; proibisce l'uso di prodotti contenenti benzene nelle seguenti lavorazioni: lavaggio a secco, sgrassaggio e pulitura in generale, impermeabilizzazione dei tessuti, fabbricazione e riparazione degli impermeabili, fabbricazione e riparazione delle calzature, lavori di pittura, decorazione, verniciatura, rivestimento in genere, sverniciatura e decapaggio, nell'uso di inchiostri e nei lavori di rotocalcografia. In tutti questi casi è tollerata la presenza del benzene solo come impurità, sino al valore massimo del 2% in peso del solvente.

**Legislazione attuale in tema di assicurazione delle malattie professionali**

Notevoli conseguenze pratiche sono state indotte da due sentenze della Corte Costituzionale: la n. 179 e la n. 206 del febbraio 1988. Con queste due sentenze vengono introdotte profonde modifiche alle assicurazioni delle malattie professionali: innanzitutto (179) viene dichiarato incostituzionale il sistema tabellare tassativo estendendo la tutela alle malattie non indicate in tabella «purché si tratti di malattie delle quali sia comunque provata la causa di lavoro»; in secondo luogo (206) si priva la stessa tabella di uno dei suoi elementi strutturali fondamentali e cioè il periodo massimo di indennizzabilità.

Con la sentenza n. 179 si realizza un adeguamento della situazione italiana a quelle in atto in diversi paesi industrializzati e alle raccomandazioni da tempo emanate dalla Comunità Economica Europea. Infatti la gestione del sistema tabellare chiuso — e ciò era stato da lungo tempo lamentato dagli studiosi delle due discipline più affini e interessate alla materia e cioè la medicina del lavoro e la medicina legale — era resa inadeguata dalla mancanza di un costante aggiornamento della lista che il legislatore, fino dall'origine (1929), aveva affidato al potere esecutivo per consentire la necessaria periodica integrazione, tanto più necessaria in questi ultimi anni in relazione ai rapidi mutamenti della produzione industriale e agricola e alle nuove tecnologie.

Il sistema tabellare tassativo era largamente limitativo del principio del rischio professionale perché escludeva dall'assicurazione obbligatoria una vasta gamma di eventi professionali per i quali operava solo la responsabilità dell'imprenditore.

Ora la Corte Costituzionale ha in sostanza posto le premesse per realizzare un regime di assicurazione delle malattie professionali aperto, liberato da ogni impaccio tranne quello del carattere professionale della malattia e garante della tutela di tutte le malattie di cui sia possibile provare la dipendenza causale dalla attività lavorativa svolta. Nella stessa sentenza è dichiarata l'illegittimità della previsione di una limitazione nel tempo della tutela dopo la cessazione lavorativa pericolosa: viene abolito cioè il periodo di massima indennizzabilità dopo la cessazione del rischio.

**Bibliografia**

Congresso, Padova 1983, *Farmer's Lung*.

Congresso Internazionale Padova, aprile, 1988, *Aspetti epidemiologici dell'asma bronchiale*.



Digitized by Google

Crepet M., Le tendenze delle patologie del lavoro, *Fed. Med.*, 1982.
Crepet M., *I tumori professionali*, 44° Congresso Nazionale della Società Italiana di Medicina del Lavoro, Padova 1981.
IARC, *Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*, 1969-1988.
XXVI Congresso Nazionale della Società Italiana di Medicina del Lavoro, Padova, 1963, *Le allergie professionali*.

MASSIMO CREPET

## LEBBRA [vol. VIII, col. 1256]

### Problemi particolari di terapia

Il trattamento della lebbra risulta difficoltoso a causa di numerosi problemi. Innanzitutto i farmaci disponibili sono, a tutt'oggi, solamente quattro (dapsone, rifampicina, clofazimina, etionamide) e, dopo monoterapia con dapsone, dal 2 al 20% dei micobatteri divengono resistenti, ed è stata anche descritta resistenza alla rifampicina. Inoltre, poiché il *Mycobacterium leprae* non cresce *in vitro*, le prove di suscettibilità agli antibiotici (determinazione della concentrazione minima inibente [MIC]) possono essere eseguite soltanto inoculando il cuscinetto carnoso delle zampe di topi nutriti con i farmaci da testare e sacrificati dopo 6-8 mesi. Questo rende complicato il controllo della terapia nel singolo paziente e limita la ricerca e lo sviluppo di nuove molecole (recentemente l'ofloxacina ha dato interessanti risultati nel topo). Poiché la terapia della l. è di lunga durata e talvolta va proseguita per tutta la vita, un altro elemento di difficoltà è rappresentato dalla scarsa *compliance* da parte dei pazienti.

#### *Farmaci principali*

1. *Dapsone*. – Il 4,4'-diaminodifenilsulfone (dapsone o DDS) agisce bloccando la reazione di condensazione dell'ac. paraminobenzoico, necessaria per la sintesi dei folati. I ceppi di *M. leprae* sensibili hanno una MIC che varia da 0,01 a 0,001 μg/ml. Dopo assunzione di una dose da 100 mg le concentrazioni plasmatiche del farmaco in un adulto del peso di 60 kg variano da 0,12 a 0,4 μg/ml; la vita media plasmatica è all'incirca di 28 h e pertanto un dosaggio giornaliero di 50-100 mg garantisce livelli, per tutte le 24 ore, superiori alla MIC utile per il *M. leprae*. Il dapsone è poco costoso e scarsamente tossico; raramente si verificano effetti collaterali in genere costituiti da emolisi, agranulocitosi, epatite, dermatite esfoliativa. È stata però descritta una sindrome similmononucleosica potenzialmente letale.

2. *Rifampicina*. – La rifampicina possiede una MIC nei confronti del *M. leprae* inferiore a 1 μg/ml e risulta rapidamente micobattericida nei tessuti e nelle secrezioni nasali. Il confronto dell'indice morfologico (rapporto tra il numero di bacilli che si colorano uniformemente e che sono quindi considerati vitali ed il numero di quelli che si colorano in modo irregolare e sono quindi considerati non vitali) fra i pazienti trattati con rifampicina e quelli trattati con dapsone dimostra che i primi hanno una riduzione netta dell'indice in 4 settimane, mentre gli altri necessitano di 3-6 mesi.

3. *Clofazimina*. – Agisce probabilmente inibendo la formazione del *template* del DNA. Il farmaco è altamente lipofilo e si deposita nel tessuto adiposo, nella cute e nel sistema reticoloendoteliale, ove è captato dai macrofagi. Essendo un colorante, provoca pigmentazione cutanea (dal rossastro al viola scuro) che recede lentamente dopo la sospensione del farmaco. La clofazimina ha scarsa biodisponibilità venendo eliminata sino al 50% di ogni dose in forma invariata con le feci.

4. *Etionamide e protionamide*. – Entrambi i farmaci dimostrano attività battericida nel topo più rapida del dapsone, ma sono epatotossici e l'esperienza clinica è ancora limitata.

### Schemi terapeutici

Nel 1982 l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha dato l'indicazione di trattare ogni forma di l. con terapie combinate. Il principale obiettivo di questo nuovo orientamento è quello di controllare l'aumento delle resistenze primarie e secondarie al dapsone e di ridurre la durata del trattamento. Per il trattamento delle forme di *l. multibacillare* (*l. borderline pura* [BB], *l. lepromatosa borderline* [BL] e *l. lepromatosa* [LL]), viene suggerito uno schema di terapia a tre farmaci: dapsone 50-100 mg/*die per os*, clofazimina 50 mg/*die per os* più 300 mg somministrati *per os* una volta al mese sotto controllo medico, e rifampicina 600 mg *per os* una volta al mese sotto controllo medico. Se la clofazimina non è tollerata può essere sostituita dall'etionamide o protionamide in dosi di 250-375 mg/*die per os*. Tale trattamento va continuato per almeno 2 anni o sino a negativizzazione degli *scrapings* e delle biopsie cutanee per bacilli acido-resistenti. È parere di alcuni esperti che, ove possibile, la rifampicina vada somministrata in dosi giornaliere di 450-600 mg *per os* per 2-3 anni. Con questo schema terapeutico i pazienti migliorano in 3-6 mesi.

Gli schemi dell'OMS per le forme di *l. paucibacillare* (*l. indeterminata* [I], *l. tubercoloide pura* [TT], *l. borderline tubercoloide* [BT]) prevedono: rifampicina 600 mg *per os* una volta al mese sotto controllo medico per 6 mesi, più dapsone 100 mg/*die per os* per 6 mesi. Alcuni esperti preferiscono trattare tali forme con: dapsone 50-100 mg/*die per os* per 2-5 anni più rifampicina 450-600 mg/*die* per 6 mesi.

#### *Terapia delle leproreazioni*

Il trattamento della leproreazione del secondo tipo o *erythema nodosum leprosum* (ENL) richiede l'uso di Aspirina® nelle forme lievi e di steroidi (prednisone 60-80 mg/*die*) nelle forme più gravi. L'associazione degli steroidi alla talidomide (200 mg 2 volte al dì, da diminuire lentamente a 50-100 mg/*die* e continuare per diversi mesi) risulta particolarmente efficace nelle forme gravi e permette di sospendere gli steroidi in pochi giorni, senza peraltro occorrere in recidive. La clofazimina va preferita alla talidomide nelle reazioni di tipo ENL in pazienti con BB. Le leproreazioni di primo tipo o reazioni inverse vanno trattate con steroidi ad alto dosaggio più clofazimina (300 mg/*die per os* per 2-4 settimane), con calo progressivo della dose di ambedue i farmaci.

#### *Immunoterapia*

Nonostante i numerosi problemi che si incontrano nel trattamento della l. (resistenza, persistenza microbica, elevato tasso di recidive pari all'1-6% per anno) i tentativi diretti ad aumentare l'immunità cellulomediata sono stati limitati e non hanno ancora fornito risultati soddisfacenti. Il *transfer factor* ha corretto parzialmente il difetto immunologico in alcuni pazienti ed ha accelerato l'eliminazione dei micobatteri dai tessuti. Attualmente si sta valutando l'efficacia di vaccinazioni ripetute con una miscela di *M. leprae* uccisi e di bacilli di Calmette-Guerin (BCG) vitali. Altre possibili prospettive immunoterapeutiche sono rappresentate dall'uso del gamma-interferon e dell'interleuchina 2.

### Profilassi

I contatti domiciliari dei pazienti con l., specialmente i bambini, vanno attentamente esaminati per segni di l. e le lesioni sospette vanno sottoposte a biopsia. I contatti di pazienti affetti da TT, e BT non debbono ricevere profilassi ma vanno controllati annualmente. I bambini che abbiano avuto contatti domiciliari prolungati con pazienti affetti da forme multibacillifere tipo BB o LL, vanno sottoposti a profilassi con dapsone. Negli adulti, meno suscettibili al contagio, tale profilassi non ha dimostrato analoga efficacia e pertanto non è raccomandata. L'efficacia di un vaccino con micobatteri uccisi è in corso di valutazione.

#### Bibliografia

Bullock W. E., *Mycobacterium Leprae (Leprosy)*, in Mandell G. L., Douglas R. G., Bennett J. E. eds., *Principles and Practice of*



Digitized by Google

*Infectious Diseases*, 1990, 3 ed., Churchill Livingstone, New York.
Jacobson R. R., *Hosp. Formulary.*, 1982, **17**, 1076.
WHO Study Group, *WHO Tech. Rep. Ser.*, 1982, **7**, 675.

FRANCESCO MENICHETTI

**LEBER, MALATTIA DI** [v. vol. VIII, col. 1282]

La malattia di Leber, descritta per la prima volta nel 1871 e denominata anche neuropatia ottica ereditaria, è una malattia progressiva del nervo ottico determinata da alterazioni del DNA mitocondriale.

Le basi genetiche e le modalità di trasmissione della malattia, se cioè si tratti o meno di malattia legata al sesso, sono state a lungo motivo di controversia. Un punto fermo, peraltro, era costituito dal fatto che nessun caso aveva mai documentato la possibilità che la malattia fosse trasmessa da padre a figlio. La m. di L. infatti è trasmessa solo per eredità materna. Considerato che l'unica parte del patrimonio ereditario individuale che viene trasmessa solo dalla madre è il DNA mitocondriale, indagini di questi ultimi anni hanno dimostrato che responsabile della malattia è, appunto, una mutazione puntiforme del DNA dei mitocondri materni.

Non è ancora definito, d'altra parte, il meccanismo responsabile del danno al nervo ottico. Dato che l'alterazione genetica comporta una ridotta attività dell'enzima mitocondriale *NADH-deidrogenasi*, è stata fatta l'ipotesi che ciò determini un disturbo nella produzione di energia simile a quello che si ha con l'intossicazione cronica di cianuro di potassio, caso in cui viene colpito in maniera preferenziale il nervo ottico.

Le biopsie eseguite sul nervo ottico indicano che è colpita in particolare la zona centrale dei due nervi ottici, dalla papilla sino al corpo genicolato laterale e che il danno è più grave a carico del fascio papillo-maculare. A livello elementare, il danno consiste, all'inizio, nella perdita di neuroni retiniei, cui segue la degenerazione dei relativi assoni e delle guaine mieliniche presenti nel nervo ottico. Questi danni sono variamente associati a lesioni in altre parti del S.N.C., in particolare a necrosi bilaterali del caudato e del *putamen*, responsabili della presenza, incostante, di disturbi motori e di atassia.

La malattia esordisce in genere tra i 18 e i 25 anni, di rado prima. Il disturbo visivo, che colpisce i due occhi in contemporanea, inizia in modo insidioso e procede il più delle volte lentamente anche se sono stati riportati casi in cui la progressione è stata tanto rapida da suggerire una neurite retrobulbare. Il decorso è piuttosto rapido, dell'ordine di settimane o mesi. Il primo segno a comparire è un disturbo della visione centrale, seguito da alterazioni della visione periferica. Frequenti e caratteristici sono anche i disturbi della visione cromatica, che interessano il più delle volte, e comunque in modo più grave, la percezione del blu e del giallo. Nelle fasi avanzate della malattia, in ogni caso, la percezione dei colori è completamente perduta.

Obiettivamente, si possono rilevare oltre ai sintomi menzionati, anche sfumatura dei margini papillari e più tardi atrofia di entrambi i dischi ottici, dilatazione e tortuosità dei vasi retinici e teleangettasie della zona peripapillare. Segnalati anche, con frequenza variabile, aritmie cardiache (soprattutto), spasticità, atassia cerebellare, tremore e ritardo mentale.

Nella diagnosi, che non pone in genere problemi per il carattere e l'andamento temporale del disturbo visivo, occorre tenere presente i casi di atrofia ottica congenita e, nelle forme fulminanti, altre possibili cause di neurite retrobulbare, per es. la sclerosi multipla.

**Bibliografia**

Ferguson F. *et al.*, *Brain*, 1929, **52**, 203.
Harding A. E., *N. Engl. J. Med.*, 1989, **320**, 1341.
Nikoskelaienen E., *Neurology*, 1984, **34**, 1482.
Singh G. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1989, **320**, 1300.
Wallace O. C., *Science*, 1988, **242**, 1427.

STEFANO CAGLIANO

**LEGIONARI, MALATTIA DEI**: v. LEGIONELLOSI*.

**LEGIONELLOSI**

F. *legionellose.* - I. *legionellosis.* - T. *Legionellosis.*

SOMMARIO



**Definizione**

Con il nome di *legionellosi* si intende una malattia infettiva che si presenta sotto diverse forme cliniche, la più importante delle quali è rappresentata da una grave polmonite a volte letale.

**Cenni storici**

Nel luglio 1976, in occasione del 58° Congresso dell'American Legion tenutosi al Bellevue Stratford Hotel di Philadelphia, si manifestò tra i partecipanti una grave epidemia di polmonite accompagnata da altri sintomi sistemici. Furono colpiti 182 soggetti, di cui 29 morirono entro una settimana (v. LEGIONARI, MALATTIA DEI [VIII, 1356]).

In un primo momento si pensò a una forma influenzale, ma il fatto che nessun caso secondario si sviluppò né tra gli ospiti dell'albergo né tra i familiari dei congressisti fece ben presto accantonare questa ipotesi. L'episodio rimase inspiegato fino a quando inoculando sospensioni di tessuto polmonare in cavie si osservò che queste cadevano ammalate per una grave affezione febbrile che le portava a morte nello spazio di 3-6 giorni. Estratti di milza iniettati nel sacco vitellino di embrioni di pollo determinarono la morte dell'embrione, mentre nel sacco vitellino vennero trovati bacilli gramnegativi simili a quelli che erano stati riscontrati nei tessuti e nell'essudato peritoneali delle cavie. Dagli strisci ottenuti fu possibile quindi identificare una nuova specie batterica che MacDade *et al.* denominarono *Legionella pneumophila*.

Il modo in cui il microrganismo venne a contatto con i reduci fu correlato alla colonizzazione dell'impianto di condizionamento. Tale considerazione fu avvalorata anche dal fatto che un'indagine sierologica, condotta tra gli impiegati dell'albergo centro dell'epidemia, mostrò che questi possedevano anticorpi, a un titolo superiore a 1:64, diretti contro il bacillo, isolato con una frequenza dal 25 al 59%, titolo che era in rapporto con la durata della loro permanenza nell'albergo. In seguito furono condotte delle indagini retrospettive e fu possibile collegare lo stesso microrganismo con una serie di eventi infettivi rimasti fino ad allora di origine sconosciuta quali: una epidemia di polmonite avvenuta nell'ospedale di Washington nel 1965 con 12 decessi su 81 casi, una epidemia occorsa a Pontiac (Michigan) nel 1968, quella dei turisti di Benidrom (Spagna) del 1973 con 3 decessi. Successivamente a queste seguirono segnalazioni di altre epidemie e di numerosi casi sporadici in tutto il mondo.

Il primo focolaio epidemico in Italia fu identificato nel settembre del 1980 in un piccolo albergo della costa adriatica dove morirono due persone. Fino al giugno 1987 erano stati segnalati in Italia 437 casi.

**Microbiologia**

Le legionelle costituiscono la nuova famiglia *Legionellaceae* comprendente diverse specie legate soprattutto a in-





Digitized by Google

fezioni polmonari in soggetti immunodepressi: *Legionella micdadei*, *L. gormanii*, *L. jordanis*, *L. wadsworthii*, *L. longbeachae*, *L. dumoffii*, *L. bozemanii*, *L. spiritensis*, *L. mackeliae*, *L. maceachernij*, *L. jamestowniensis*, *L. santacrucis*, *L. cherrii*, *L. steigerwaltlii*, *L. parisiensis*, *L. rubrilucens*, *L. erythra*, *L. israelensis*, *L. birminghamensis*, *L. pneumophila*, *L. feeleii*. Per quanto concerne le specie patogene più importanti, v. tab. I.

La *Legionella pneumophila* è la più importante in quanto è causa della maggior parte delle l. È un batterio gramnegativo, polimorfo, largo 0,3-0,9 µm, lungo 2-20 µm, aerobio, non sporigeno, non capsulato, dotato di una membrana cellulare tristratificata, flagellato e quindi mobile (fig. 1).

Utilizza aminoacidi per il proprio fabbisogno energetico,

**TAB. I. PRINCIPALI SPECIE PATOGENE DEL GENERE *LEGIONELLA***

| Specie | Caratteristiche |
|---|---|
| *L. pneumophila* | È responsabile della quasi totalità dei casi di legionellosi; interessa l'apparato polmonare in maniera epidemica o sporadica con localizzazione extrapolmonare |
| *L. micdadei* | È la specie meglio conosciuta dopo *Legionella pneumophila* (sin.: agente di Pittsburgh, batterio di Tatlok e Heba). È la responsabile della maggior parte dei casi di legionellosi nosocomiali. Le polmoniti hanno una evoluzione più rapida per cui la prognosi è sempre riservata. Non produce beta-lattamasi |
| *L. gormanii* | Fu isolata dal terreno umido mentre venivano condotte indagini su una forma epidemica di legionellosi insorta in un Country Club di Atlanta (Georgia, U.S.A.) e retrospettivamente fu identificata quale agente responsabile di una piccola epidemia di polmonite verificatasi nel Connecticut nel 1978 (ceppo LS13) |
| *L. jordanis* | Un ceppo (BL540) fu isolato nel 1982 da un campione di acqua del fiume Jordan in prossimità di un campus dell'Università dell'Indiana a Bloomington dove nel 1978 si ebbe un'epidemia di legionellosi; un'altra si verificò nel 1980 (ceppo ABB8) nella contea di De Kalb |
| *L. wadsworthii* | Isolata nel 1981 è causa di polmonite in ospiti immunocompromessi, caratterizzata dalla lenta risoluzione anche sotto adeguata terapia |
| *L. longbeachae* | Fu isolata nel 1981 dall'aspirato transtracheale e da materiale bioptico in 7 soggetti che presentavano una polmonite acuta con caratteristiche simili a quella causata da *Legionella pneumophila*: in 2 di questi soggetti si ebbe esito infausto; in tutti i casi era presente una patologia cronica di base con frequente versamento pleurico emorragico |
| *L. dumoffii* | Sono noti due ceppi (NY23; TEXLK), quest'ultimo isolato da un campione autoptico di tessuto polmonare. La forma clinica determinata si caratterizza per la particolare diffusione parenchimale, con frequenti emottisi e grave insufficienza respiratoria |
| *L. bozemanii* | (ceppi WIGA, GABM, AALO1, MI-15). Isolata da tessuto polmonare di soggetti deceduti per polmonite, non presenta caratteristiche clinicoradiologiche. È stato descritto un caso resistente alla eritromicina |
| *L. feeleii* | È responsabile soprattutto di forme asintomatiche e della febbre di Pontiac |

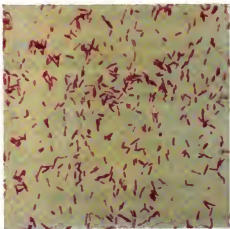



Fig. 1. *L. pneumophila* colorata con il Gram usando come colorante di contrasto fucsina basica invece di safranina. (*Da Testo-Atlante di Microbiologia Diagnostica, 1987, Antonio Delfino editore 1987, I ed., Roma*).

possiede un'attività patogena determinata da una endotossina debolmente attiva, metanolo-sensibile, termostabile e sensibile a enzimi proteolitici. Presenta varie esotossine citotossiche ed emolitiche. La presenza di enzimi extracellulari (fosfatasi, lipasi, proteasi, esterasi) permette la positivizzazione delle reazioni per la catalasi, l'ossidasi, la gelatinasi, e altre ancora. Non riduce i nitrati e non produce acido dagli zuccheri.

Possiede un antigene sierogruppo-specifico sulla membrana esterna, che ne permette la tipizzazione: della *Legionella pneumophila* esistono 12 sierotipi diversi, il più importante dei quali è il sierotipo 1.

L'isolamento colturale è difficile in quanto richiede la utilizzazione di terreni selettivi e non. I terreni maggiormente usati sono l'agar Mueller-Hinton, il Feeley-Gorman (FG) e un terreno solido di agar contenente carbone con estratto di lievito (Agar-BCYE). Le colonie sviluppatesi in coltura sono di dimensioni variabili, in genere tondeggianti (da una punta di spillo a 3-4 mm di diametro) e più raramente filamentose.

*In vivo*, a livello polmonare si sono osservate forme filamentose e coccobacillari.

Per il riconoscimento si usano tecniche sierologiche con ricerca degli anticorpi specifici anti-*Legionella pneumophila* mediante immunofluorescenza diretta, indiretta (IFA: *Indirect Fluorescent Antibody*) e immmunoperossidasi. Meno utilizzate sono le tecniche ELISA e RIA per la ricerca degli antigeni nei liquidi organici (urine, etc.).

**Epidemiologia**

L'infezione da *Legionella pneumophila* è ubiquitaria e la malattia può presentarsi in forma epidemica, nosocomiale e con casi sporadici. Le infezioni polmonari possono decorrere in maniera asintomatica, con un quadro similinfluenzale (febbre di Pontiac) o con un quadro clinico di polmonite che rappresenta il 5-15% di tutti i casi di broncopolmonite acuta degli adulti ricoverati in ambiente ospedaliero,





Digitized by Google

Le legionelle prediligono gli ambienti umidi, in particolare: acque superficiali (stagni, corsi d'acqua e terreno circostante), acque di scarico, impianti di raffreddamento, di condensazione, apparecchi di umidificazione, etc. Risultano poco sensibili alla luce solare e nell'habitat acquatico si trovano spesso associate alle alghe verdi-azzurre e alle amebe (genere *Naegleriae* e *Acanthamoebae*) che ne possono favorire la persistenza anche per più di un anno a temperature variabili tra 6 e 67 °C.

Gli episodi epidemici sono correlati alla colonizzazione degli impianti idrici; in particolare, nelle tubature di distribuzione dell'acqua calda si stabilisce una interazione tra microflora, sedimento e temperatura. Quindi le legionelle si possono considerare microrganismi termofili, ma possono comportarsi anche come criofili, dimostrando una notevole adattabilità all'ambiente. Inoltre anche i terreni di scavo possono rappresentare un veicolo d'infezione mediante l'aerosolizzazione del pulviscolo smosso.

Fino a oggi non vi è stata alcuna dimostrazione della possibilità di trasmissione mediante contatti interumani.

La malattia è più frequente nei mesi estivo-autunnali, colpisce prevalentemente individui di sesso maschile con un rapporto di 3:1. È accertato ormai che diversi fattori predispongono all'infezione: malattie croniche debilitanti (diabete mellito, etilismo, malattia ostruttiva cronica polmonare, malattie cardiovascolari, etc.), immunosoppressione per diverse cause, viaggi in aree endemiche, esposizione ad aerosol da docce o rubinetti di acque potabili contaminate. Particolarmente esposti appaiono i soggetti sottoposti a trapianti renali o midollari e quelli con sindrome da immunodeficienza acquisita.

Secondo alcune statistiche l'infezione ha una incidenza dello 0,1-1% in zone a bassa endemia, del 10-30% in zone ad alta endemia. Il 3-8% dalle polmoniti a esito mortale sono costituite da polmonite da *Legionella pneumophila*.

In Italia nel 1983 è stato istituito un Programma nazionale di sorveglianza (D.M. del 7-2-1983) che ha anche inserito la l. nell'elenco delle malattie infettive a denuncia obbligatoria. Il sistema di sorveglianza, centralizzato all'Istituto Superiore di Sanità (ISS), ha sviluppato la sua attività sul piano diagnostico ed epidemiologico, preparando e distribuendo a una rete di laboratori periferici materiali diagnostici e materiale documentario, permettendo di arrivare a una sistematica raccolta di dati. Ogni caso di l. identificato con diagnosi clinica confermata dal laboratorio (elevato titolo anticorpale, sieroconversione e/o isolamento di *Legionella* spp.) viene segnalato all'ISS con apposita scheda. Il sistema prevede anche l'invio di campioni di siero per la conferma sierologica e l'invio di eventuali ceppi isolati per la loro titolazione o di materiale organico e ambientale per l'isolamento di *Legionella*.

**Clinica**

Con il termine l. vengono comprese sia la malattia dei legionari che la febbre di Pontiac e tutte le infezioni provocate da batteri della famiglia delle *Legionellaceae*.

*Febbre di Pontiac*

È una forma di l. dovuta alla *Legionella pneumophila* e alla *L. feeley*. Il periodo di incubazione è in media di 36 h (5-66 h). La sintomatologia è caratterizzata da malessere generale, cefalea, raramente astenia e anoressia; nel 38-60% dei casi sono presenti dolore o sensazione di costrizione retrosternale; spesso si accompagna a faringodinia. Modeste sono le manifestazioni extrapolmonari (obnubilamento del sensorio, rigidità muscolare, fotofobia, diarrea, nausea, dolori addominali). L'esame clinico è negativo per pneumopatia acuta. Gli esami di laboratorio evidenziano una leucocitosi neutrofila con, a volte, ematuria microscopica, proteinuria e leucocituria. La sindrome scompare in 3-5 giorni senza lasciare reliquati; è quindi difficile diagnosticarla senza riferimenti epidemiologici.

*Polmonite da legionelle (malattia dei legionari)*

L'esordio, dopo un periodo di incubazione di 2-10 giorni, è generalmente brusco nei soggetti immunodepressi; febbre alta (> 39 °C), continua, con brividi, cefalea intensa, mialgie, dolore toracico retrosternale, prostrazione e sudorazione profusa. La tosse secca compare generalmente dopo pochi giorni, ma può essere presente fin dall'inizio e divenire produttiva dopo 3-4 giorni con espettorato dapprima sieroso e poi rapidamente mucopurulento.

Nei bambini sono più frequenti, rispetto agli adulti, la dispnea e la tachicardia. Negli adulti è stata segnalata una bradicardia relativa associata a una curva termica similtifosa.

All'esame clinico il paziente si presenta disidratato, polipnoico, dispnoico o cianotico con stato di coscienza alterato. Obiettivamente, si rilevano aree di addensamento parenchimale mono- o bilaterale con ipofonesi; all'ascoltazione si apprezzano rantoli crepitanti inspiratori con segni di versamento pleurico. Le lesioni si localizzano prevalentemente a carico dei lobi inferiori.

V. anche: LEGIONARI, MALATTIA DEI (VIII, 1356).

*Legionellosi extrapolmonare*

Una grande varietà di quadri clinici conseguenti alla compromissione di diversi apparati sono stati descritti in corso di l. Contemporaneamente ai segni della localizzazione polmonare sono stati descritti segni e sintomi gastroenterici: dolori addominali spontanei o provocati dalla palpazione, diarree profuse acquose senza muco o pus e raramente con sangue, talvolta intenso meteorismo, epatosplenomegalia.

L'interessamento renale varia dalla semplice ematuria all'insufficienza renale (10% dei casi).

I disturbi cardiaci sono caratterizzati da tachicardia, extrasistoli ventricolari, cardiomegalia.

Comunque, le manifestazioni extrapolmonari più frequenti sono a carico del sistema nervoso con confusione mentale e disorientamento nei primi 2-3 giorni di malattia seguiti da una riduzione o da un'accentuazione dei riflessi. Possono anche comparire fenomeni allucinatori, atassie, disartrie e segni focali (emiparesi, disfasia).

Le turbe neurologiche si possono verificare anche in assenza della tipica compromissione polmonare. Sono stati descritti anche, conseguentemente all'infezione da legionelle, quadri di congiuntivite, laringite, linfoadenite, sinusite, pericardite, pielonefrite, peritonite, pancreatite ed endocardite.

**Esami strumentali e di laboratorio**

L'esame radiologico del torace effettuato al momento del ricovero può presentare immagini con zone di opacità rotondeggianti o a margini sfumati che possono confluire e diffondersi in maniera lobare o a tutto il polmone. All'interno di queste opacità massive sono stati descritti fenomeni di necrobiosi e ascessualizzazione. Nel 25-50% dei casi si osservano infiltrati bilaterali con reazione pleurica.

L'esame emocromocitometrico presenta nel 90% dei casi leucocitosi neutrofila accompagnata, talvolta, dalla presenza di forme immature. La leucopenia è rara e si associa a ipoplasia midollare a prognosi infausta. L'anemia è rara e la piastrinopenia è legata ad una sindrome da coagulazione



Digitized by Google

intravascolare disseminata. L'iponatriemia è considerata un segno specifico di questa affezione (inefficace secrezione di ADH). Talvolta si osserva aumento delle transaminasi, del fibrinogeno, dell'azotemia, della creatininemia. L'emogasanalisi può rilevare uno stato di ipossia.

**Complicanze**

L'evoluzione dei processi infiltrativi può portare alla ascessualizzazione e alla formazione di empiemi polmonari che evolvono rapidamente verso l'insufficienza respiratoria. Si possono formare anche delle fistole broncopleuriche. Raro è il pneumotorace.

Le complicanze gastroenteriche sono generalmente transitorie, comunque sono state descritte ulcere gastroduodenali ed episodi peritonitici.

Le complicazioni renali (pielonefrite acuta, nefropatia interstiziale) solo in pochi casi hanno richiesto l'uso della dialisi per uremia.

Più frequenti e più serie sono le complicanze neurologiche (afasia, paraplegia, demenza, epilessia) in quanto possono trascinarsi nel tempo o divenire permanenti.

Infine sono state riscontrate leucopenia, trombocitopenia, anemia emolitica autoimmune, miocarditi, versamenti pericardici e shock settico.

Il decesso avviene nel 15-20% dei casi.

**Anatomia patologica**

La localizzazione polmonare si presenta, macroscopicamente, con un addensamento a estensione lobulare a delimitazione settale oppure con interessamento massivo a distribuzione lobare con infiltrati flogistici. Talora si evidenziano ascessi micro-macroscopici e/o empiemi e versamenti pleurici sierosi o sieroematici.

Istologicamente si ha una intensa infiltrazione di polimorfonucleati e macrofagi intralveolari. Gli alveoli, infatti, appaiono ricchi di essudato fibrinoso inglobante neutrofili, macrofagi e scarsi eritrociti.

Mediante l'impiego della immunofluorescenza diretta e dell'immunoperossidasi è possibile evidenziare, su sezioni di tessuto polmonare, le legionelle in sede intra- ed extracellulare. Inoltre le legionelle sono state ritrovate anche nella pleura, nel fegato, nella milza, nei reni, nel midollo osseo, nel cuore, nell'encefalo, nel peritoneo, nella placenta e nel liquido peritoneale. Esse si moltiplicano all'interno dei macrofagi tessutali e dei monociti del sangue periferico, ma non in colture di linfociti. Le difese immunitarie contro la l. sono di tipo cellulomediato in quanto solo i polimorfonucleati e i monociti attivati da linfochine sono in grado di inibire la moltiplicazione intracellulare dei batteri. Gli anticorpi antilegionelle e il complemento favoriscono il legame del germe con le cellule e la successiva penetrazione e moltiplicazione nel citoplasma. Il ruolo degli anticorpi non è ben chiaro: essi non proteggono alcuni soggetti sieropositivi da infezioni ricorrenti.

**Diagnosi**

La diagnosi di l. non è molto agevole nelle forme sporadiche, si può sospettarla nelle polmoniti nosocomiali associate a sofferenza epatica, renale e/o nervosa. È necessario comunque sempre differenziarla da altre forme di polmoniti atipiche primarie, quali quelle da *Mycoplasma pneumoniae*, da *Chlamydia psittaci* e *trachomatis*, da *Coxiella burnetii*, da *Klebsiella*, da *Streptococcus pneumoniae* e da polmoniti virali.

La diagnosi è fondata principalmente sulla ricerca nel siero degli anticorpi specifici anti-*L. pneumophila* mediante la tecnica dell'IFA. Un titolo di 1:256 è diagnostico, mentre un titolo di 1:128 è indice di infezione pregressa; la risposta ritardata (2-6 settimane) rende l'IFA valida per studi epidemiologici, malgrado la presenza di inconvenienti, quali la necessità di avere a disposizione una batteria di antigeni e la possibilità di reazioni crociate con *Chlamydia psittaci*, *Bacteroides fragilis*, leptospirosi, tularemia.

Le tecniche ELISA e RIA, che hanno mostrato una specificità sovrapponibile a quella dell'IFA, sono utili se impiegate in fase precoce della malattia.

Recentemente, è stata proposta l'utilizzazione di *DNA probe* al fine di identificare *L. pneumophila* su coltura. Il test si avvale dell'uso di sonde radiomarcate (*probes*) di acidi nucleici complementari al genoma del microrganismo.

**Decorso e prognosi**

Il decorso clinico è di diverse settimane, la risoluzione radiografica è assai lenta e molto più tardiva rispetto al miglioramento clinico e alla scomparsa dei segni obiettivi. Lo sfebbramento avviene in circa 10 giorni e la convalescenza è prolungata con malessere generale, astenia, tosse secca e dispnea da sforzo correlata a una riduzione della diffusione della $CO_2$.

La prognosi è chiaramente riservata, in particolare negli immunodepressi e nei bambini dove è da temere l'insorgenza di una miocardite acuta.

Qualora si effettui una diagnosi precoce seguita da una opportuna terapia la prognosi delle polmoniti è favorevole.

**Terapia**

La febbre di Pontiac non necessita di alcun trattamento antibiotico, ma solo sintomatico.

Nella malattia dei legionari l'antibiotico d'elezione è la eritromicina alla dose di 1,5 *g/die* per via orale o nei casi più gravi per via e. v. alla dose di 40-50 *mg/die* (nei bambini 15 mg/kg ogni 12 h). Recentemente si sono ottenuti degli ottimi risultati con l'uso di nuovi macrolidi quali la roxitromicina e la claritromicina. Il trattamento deve essere prolungato per almeno 3 settimane per evitare eventuali ricadute.

Nelle forme complicate oltre alla utilizzazione di altri presidi (intubazione, emodialisi, alimentazione parenterale) si associano eritromicina (2-4 *g/die* e. v.) più rifampicina (600 mg × 2*/die* e. v.) oppure doxiciclina (200 mg) più rifampicina (600 mg) in un'unica somministrazione per via e. v.

**Profilassi**

È basata essenzialmente sul controllo e sulla disinfezione delle torri di raffreddamento e dei condensatori di vapore degli impianti di condizionamento dell'aria, sulla rimozione delle incrostazioni e dei residui di materiale organico nei depositi e nelle tubature dell'acqua. Vanno evitati gli sbalzi di pressione nelle condutture idriche che possono intorbidire le acque. Oltre alla bonifica delle zone con acque stagnanti, controlli andranno effettuati anche nei terreni di scavo, da dove con il pulviscolo smosso e comunque aerosolizzato si può avere la diffusione per aerosolizzazione o per instillazione diretta o aspirazione. Buoni risultati sono stati ottenuti mediante il ricambio dell'acqua di impianti idraulici effettuato, ogni mese, tramite l'apertura intermittente di docce e rubinetti per 72 h a 70 °C.

È allo studio sugli animali la preparazione di un vaccino che però non appare allo stato attuale vantaggioso data la bassa contagiosità dell'infezione.

**Bibliografia**

Agosti E., Bosio G., De Rosa C., *Min. Pneumol.*, 1989, **28**, 13.
Back E. I., Schvarcs R., Kallinges I., *Scand. J. Infect. Dis.*, 1983, **15** (3), 113.
Best M., Yu V. L., Stout J. *et al.*, *Lancet*, 1983, **II**, 307.
Fang G.-D., Yu V. L., *Other Legionella Species*, in Mandell G. L., Douglas R. G., Bennett J. E., *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 1990, Churchill Livingstone, New York, Edinburgh.




Digitized by Google

Fumarola D., Brandonisio O., Marcuccio L. et al., *Min. Ped.*, 1981, **33** (3), 101.
Fumarola D., *Atti del Convegno Interregionale «Legionellosi Oggi»*, Ferrara 24 giugno 1988, 5.
Ghinelli F., Libanore M., Bicocchi R., Sighinolfi L., *Atti del Convegno Interregionale «Legionellosi Oggi»*, Ferrara 24 giugno 1988, 30.
Greco D., *Atti del Convegno Interregionale «Legionellosi Oggi»*, Ferrara, 24 giugno 1988, 13.
Grimont P. A. D., Grimont F., Despauces N., Tcher P., *J. Clin. Microbiol.*, 1985, **21**, 431.
Johnson J. T., Yu V. L., Best M. G., Vickers R. et al., *Lancet*, 1985, **II**, 298.
Liebers D. M., Baltch A. L., Smith R. P. et al., *J. Antimicrob. Chemother.*, 1989, **23**, 37.
Lucchesi M., Matzor M., *Fed. Med.*, 1985, **38** (6), 682.
Mc Dade J. E. et al., *N. Engl. J. Med.*, 1977, **297**, 1197.
Midulla M., Nigro G., Bavastelli R., *Atti del Convegno Interregionale «Legionellosi Oggi»*, Ferrara 24 giugno 1988.
Neil M. A., Gorman G. N., Gilbert G. et al., *Am. J. Med.*, 1985, **78**, 581.
Nigro G., *Riv. It. Ped.*, 1987, **13**, 233.
Yu V. L., *Legionella pneumophila*, in Mandell G. L., Douglas R. G., Bennett J. E., *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 1990, Churchill Livingstone, New York, Edinburgh.

CARLO CLEMENTI E MARIO NUTI

## LENTI E OCCHIALI [v. vol. VIII, col. 1403]

### Lenti a contatto (VIII, 1415)

Le prime lenti [l.] a contatto furono proposte alla fine dell'Ottocento per la correzione degli astigmatismi irregolari e per il trattamento del cheratocono. Costruite in vetro, erano formate da due porzioni, una, a contatto con la cornea, di forma sferica o torica e un'altra adagiata sulla sclera, ricoprente una estesa superficie di bulbo oculare.

Intorno al 1930, furono realizzate le prime l. a contatto sclerali in materiale plastico, che, rispetto a quelle in vetro, presentavano i vantaggi dell'infrangibilità, dell'inattaccabilità da parte degli agenti fisici e chimici e del minor peso specifico.

La vera diffusione delle l. a contatto si ebbe solo dopo la II guerra mondiale, quando nacquero le l. a contatto corneali. Queste, grazie anche all'affinarsi delle forme e dei materiali da costruzione, presentavano rispetto alle precedenti, eccellenti caratteristiche di adattabilità, tollerabilità e stabilità.

La principale indicazione all'uso delle l. a contatto consiste nella correzione delle ametropie; in particolare esse rappresentano, per le loro caratteristiche ottiche, l'ausilio visivo ideale nelle ametropie elevate e nei vizi di refrazione con anisometropia, in particolare nell'afachia monolaterale. Rispetto alle l. tradizionali hanno il vantaggio di conferire un campo visivo più ampio e di ridurre l'aniseiconia in quanto, essendo applicate in vicinanza del piano principale oggetto dell'occhio, alterano pochissimo la grandezza delle immagini sulla retina. Eliminano inoltre l'anisoforia ottica per l'assenza dell'effetto prismatico.

Un altro importante campo di applicazione è rappresentato dalla correzione refrattiva dell'astigmatismo irregolare, proprio delle cicatrici corneali da malattie e traumi, e del cheratocono ove le l. a contatto permettono il ristabilirsi di una superficie corneale regolare. È discusso, inoltre, se il loro effetto contenitivo meccanico possa ritardare la progressione del cheratocono stesso.

Importante è anche lo scopo terapeutico delle l. a contatto che si ottiene utilizzando l. morbide ad alta idrofilia. Queste, infatti, possono offrire una protezione meccanica e impedire lo sfregamento da parte delle palpebre in molte affezioni in cui la cornea sia lesa.

Le l. corneali terapeutiche vengono utilizzate in diverse malattie, quali il lagoftalmo, la cheratite bollosa, la cheratite filamentosa e le erosioni corneali recidivanti. Possono inoltre rappresentare un importante ausilio nella riparazione delle ulcere corneali di varia natura e nelle ustioni corneali da agenti chimici.

Le l. a contatto possono essere utilizzate anche come serbatoio di farmaci in tutte quelle circostanze ove sia necessario il rilascio lento e costante di un medicamento idrosolubile.

Dispongono inoltre di una doppia funzione ottica e cosmetica nell'albinismo e nell'aniridia. La sola funzione cosmetica viene invece sfruttata in presenza di alterazioni corneali deturpanti e, più semplicemente, quando si desideri cambiare il colore degli occhi.

Naturalmente accanto a queste indicazioni esistono anche delle *controindicazioni* all'uso delle l. a contatto. Tali impedimenti sono rappresentati da numerose malattie, tra le quali le disepitelizzazioni corneali per lesioni del V paio dei nervi cranici, i leucomi corneali molto vascolarizzati, gli stati infiammatori, allergici o meno, della congiuntiva, le blefariti, la lacrimazione eccessiva o ridotta e altre intolleranze individuali di ordine sensitivo o di carattere psicologico.

Le *complicanze* legate all'uso delle l. a contatto possono essere di vario tipo e gravità, potendo andare da bruciore e iperemia congiuntivale cronica, in funzione di una applicazione errata e di scarsa igiene delle l., alla congiuntivite gigantopapillare di probabile natura allergica sino alla gravissima cheratite batterica da *Pseudomonas aeruginosa*. Quest'ultima può originare da un'abrasione corneale causata dalla l. contaminata e può, se non trattata adeguatamente, portare alla tragica perforazione della cornea, con esito in endoftalmite e perdita del bulbo.

Le moderne l. a contatto vengono costruite in varie forme e materiali ottenuti mediante un processo chimico di polimerizzazione.

Le l. a contatto *rigide* sono costituite dal più antico materiale plastico utilizzato per questo mezzo di correzione visiva, il *polimetilmetacrilato* (PMMA). Questo è ottenuto dalla esterificazione dell'ac. metacrilico con l'alcol metilico, risulta ben tollerato dai tessuti ed è indeformabile entro i limiti fisiologici della temperatura corporea. Possiede scarsissima idrofilia e permeabilità all'ossigeno per l'assenza dei gruppi ossidrilici −OH nella sua struttura. Lo svantaggio delle l. rigide risiede nel fatto che, per consentire un'adeguata ossigenazione corneale, vengono costruite con diametri molto piccoli che le rendono poco stabili e confortevoli.

Questi svantaggi sono stati in gran parte superati con il recente avvento delle l. a contatto *semirigide* o *gas-permeabili* (fig. 1), costruite con materiali dotati di maggiore flessibilità e permeabilità all'ossigeno. Tra questi, i più noti sono quelli ottenuti dalla modificazione del PMMA, o dalla sua copolimerizzazione con altre sostanze come il silicone.

Una terza categoria di l. è costituita dalle l. *morbide*, o *idrofile* (fig. 2). Queste vengono costruite con un materiale ottenuto da Witcherle, nel 1960, tramite la copolimerizzazione del 2-*idrossimetacrilato* con l'*etilene dimetacrilato*, chiamato HEMA. È una sostanza che grazie alla grande quantità di gruppi ossidrilici −OH possiede un'elevata idrofilia, intorno al 40%. Esistono, inoltre, materiali a più elevata idrofilia, utilizzati per l. a contatto *a uso permanente* (*extended wear lenses*) e terapeutico. L'uso di queste *l. permanenti*, utilizzate ininterrottamente giorno e notte per un mese circa, si sta rapidamente diffondendo e negli Stati Uniti, per esempio, il numero degli utenti è ormai di alcuni milioni. D'altra parte è stato di recente sottolineato come l'uso di queste lenti non sia privo di pericoli. Per esempio, il rischio di ulcere corneali è da 9 a 15 volte maggiore con queste che con le l. tradizionali; con le l. permanenti il



Digitized by Google

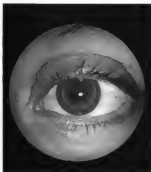



Fig. 1. L. a contatto semirigida.

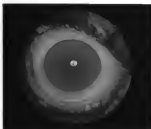



Fig. 2. L. a contatto morbida (evidenziata tramite colorazione con fluoresceina).

rischio di ulcere è di un caso ogni 300-450 utenti, rischio che aumenta 10 volte ogni 10 anni d'impiego.

Qualsiasi siano i materiali con cui vengono costruite, le caratteristiche delle l. a contatto sono determinate da tre parametri principali: il diametro, il raggio di curvatura e il potere ottico. Vengono costruite secondo varie forme. La l. *sferica* segue l'andamento della cornea ed è caratterizzata da una porzione centrale con raggio di curvatura analogo o poco superiore al raggio maggiore della curvatura corneale e da una porzione periferica (flangia), con una o più curve di raggio superiore a quello della zona centrale, tale da consentire un'adeguata circolazione del film lacrimale al di sotto della l. stessa. Le l. a contatto di forma sferica consentono la correzione di tutte le ametropie sferiche e, nel caso in cui siano realizzate in materiali rigidi e semirigidi, degli astigmatismi corneali anche elevati. Le l. a contatto morbide sferiche correggono gli astigmatismi fisiologici e di grado medio, generalmente fino a 2 diottrie, se associati a componenti sferiche positive elevate, come nel caso della afachia.

In caso di astigmatismi corneali elevati, con astigmatismo del cristallino dello stesso tipo di quello corneale, vengono invece utilizzate l. con apposita forma *torica*, sia a scopo ottico che per migliorarne la stabilità.

Un cenno a parte meritano le l. a contatto *monouso*, o *lenti usa e getta* (o *disposable*). Tali l. di materiale idrofilo, vengono costruite secondo una tecnica che fa sì che non vi siano le variazioni dei parametri proprie delle l. a contatto tradizionali, rendendo così possibile la loro riproduzione per la fabbricazione in larga scala. Tali l. possono essere utilizzate per non più di due settimane (in genere una settimana) e non necessitano, per il mantenimento, di prodotti di pulizia e conservazione. Sono il frutto della ricerca di un adattamento il più fisiologico e asettico possibile. Con le l. monouso diminuisce la probabilità che si formino depositi sulla loro superficie, spesso responsabili di infezioni oculari, così come si ovvia all'instaurarsi di fenomeni di sensibilizzazione dovuti al contatto delle sostanze conservanti sull'occhio. Tuttavia, anche con queste l. sono state già segnalati dei casi di infiltrati corneali sterili e di cheratiti da *Pseudomonas*.

Infine, sono degne di nota le l. bifocali per la correzione della presbiopia. I tipi attualmente in uso sono tre: le *l. bifocali asferiche a pezzo unico*, le *l. bifocali concentriche* e le *l. bifocali a visione alternata*. Tuttavia, queste l. presentano, attualmente, ancora seri inconvenienti, legati al movimento della l. sulla superficie corneale e all'effetto delle variazioni del diametro pupillare.

**Bibliografia**


Anonimo, *The Medical Letter*, 1990, **19**, 81-82.
Dabezies O. H. jr., *Contact Lenses, The CLAO Guide to Basic Science and Clinical Practice*, 1984, vol. 1-II, Grune & Stratton Inc., London.
Dart J. K. G., *The Practitioner*, 1988, **233**, 126-129.
Lo Cascio G., *Corso teorico pratico di contattologia medica, Atti*, 1982, Palermo.
Smith R. E., MacRae S. M., *N. Engl. J. Med.*, 1989, **321**, 824.


MARIA PIA PAROLI

**Lenti intraoculari**

La storia moderna delle l. intraoculari, *cristallino artificiale* o *pseudofaco*, ebbe inizio subito dopo la fine della II guerra mondiale con gli studi di Ridley. Avendo osservato che alcune piccole schegge di PMMA, staccatesi dai finestrini degli aerei, erano ottimamente tollerate dagli occhi dei piloti britannici, Ridley pensò che tale materiale potesse essere utilizzato nella riabilitazione visiva dopo l'intervento chirurgico di estrazione di cataratta (v.*). Iniziò così la sperimentazione di lentine intraoculari (*Intraocular Lenses*, o IOL) introdotte nella camera posteriore dell'occhio nel corso di interventi chirurgici per estrazione extracapsulare di cataratta.

In seguito, vari AA. hanno proposto diversi modelli di IOL con vari tipi di fissazione. Strampelli, nel 1953, ideò una IOL da camera anteriore e nello stesso anno Binkhorst propose una l. a fissazione iridea. Nel corso degli anni sono stati proposti vari tipi di IOL, che hanno avuto diversa accoglienza tra gli studiosi, probabilmente anche in relazione con le mode, oltre che con il progredire delle tecnologie microchirurgiche.

Attualmente, le IOL più utilizzate nel corso degli interventi chirurgici per cataratta sono quelle da camera posteriore (fig. 3) che prevedono l'impiego delle tecniche di estrazione extracapsulare. Una condizione particolare è quella degli impianti secondari, cioè di introduzione di un cristallino artificiale in un occhio precedentemente operato

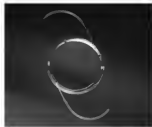



Fig. 3. L. intraoculare da camera posteriore (Mod. Dual Ridge, Surgidev).





Digitized by Google

per cataratta, per i quali vengono preferite le IOL da camera anteriore.

Le moderne IOL sono costituite da due porzioni: una ottica e una aptica, costituite degli stessi materiali delle l. a contatto corneali, ovverosia il PMMA, lo HEMA, il silicone, etc.

Grazie all'introduzione di tali presidi protesici, si è in grado di ottenere un ottimo risultato funzionale negli operati di cataratta. Infatti, le IOL da camera posteriore, che vengono impiantate nella posizione originaria del cristallino, forniscono una visione del tutto sovrapponibile a quella degli occhi fachici, con l'unica limitazione dell'accomodazione. Progressi in questa direzione si stanno facendo con la sperimentazione di IOL bifocali e multifocali.

Esistono tuttavia delle controindicazioni all'impianto delle IOL, rappresentate da condizioni patologiche come il microftalmo, la *rubeosis iridea*, le flogosi uveali. Le IOL, inoltre, sono controindicate in seguito all'estrazione della cataratta congenita in bambini molto piccoli con occhi ancora in via di sviluppo. Altre patologie oculari, quali le distrofie dell'endotelio corneale e il glaucoma sono controindicazioni assolute all'uso di IOL da camera anteriore che ne complicano notevolmente il decorso.

In conclusione, oggigiorno l'impianto di una IOL è da considerarsi tappa fondamentale di un intervento di cataratta, tenuto conto delle eccezioni, per i vantaggi indiscutibili che offre.

Si deve comunque tenere sempre presente che si tratta di una microchirurgia complessa e in continua evoluzione.

**Bibliografia**
Bronner A., Baikoff G., Charleux J. *et al.*, *La correction de l'aphakie*, 1983, S.O.F., Masson, Paris.
Buratto L., *Atlante di lenti intraoculari*, 1984, Centro Ambrosiano di microchirurgia oculare, Milano.
Mazzocco T., Rajacich G., Epstein E., *Soft Implant Lenses in Cataract Surgery*, 1986, SLACK Incorporated, New Jersey.

MARIA PIA PAROLI

## LENTIVIRUS

Dal punto di vista strettamente tassonomico i lentivirus sono una subfamiglia dei retrovirus (v.; v.*) e comprendono tre virus degli ovini e degli equini che causano la sindrome del Maedi-Visna, l'artrite ed encefalite della capra e l'anemia infettiva del cavallo. Appartengono inoltre ai l. l'HIV (*Human Immunodeficiency Virus*), agente etiologico della sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS), il SIV (*Simian Immunodeficiency Virus*) e il FIV (*Feline Immunodeficiency Virus*), due virus che causano sindromi simili all'AIDS nella scimmia e nel gatto.

Secondo un più ampio criterio clinico, vengono però compresi fra i virus lenti tutti gli agenti delle infezioni virali lente dell'uomo e degli animali. Queste malattie si distinguono dalle malattie croniche, che generalmente rappresentano l'evoluzione di una fase acuta, per essere caratterizzate da un lungo periodo di incubazione (da qualche mese a vari anni) asintomatico, seguito dall'instaurarsi della malattia che si sviluppa per un periodo protratto ma di durata piuttosto regolare e segue un corso ingravescente terminando generalmente con la morte. Le infezioni lente sono eterogenee dal punto di vista etiologico, poiché alcune sono causate da virus convenzionali, mentre altre sono sostenute da agenti simil-virali non convenzionali, cioè con proprietà anomale rispetto ai virus conosciuti (tab. I).

Carattere patogenetico fondamentale di tutte le infezioni virali lente è la persistenza virale, intesa come continua presenza del virus o di cellule infettate latentemente nonostante la risposta immunitaria antivirale dell'ospite. I principali fattori di persistenza sono: 1) bassa patogenicità del virus, formazione di particelle virali difettive che determinano interferenza, ridotta permissività delle cellule dell'ospite con conseguente restrizione della replicazione virale e infezione scarsamente produttiva; 2) alterata reattività immunitaria dell'ospite, dovuta a mascheramento degli epitopi antigenici altamente glicosilati del pericapside virale che determina assenza di risposta immunitaria, produzione di anticorpi non neutralizzanti, formazione di immunocomplessi infettanti e protezione delle cellule infettate dalla lisi operata dai linfociti immuni; 3) frequenti e periodiche mutazioni nel gene virale *env* codificante la glicoproteina di superficie che è riconosciuta dagli anticorpi neutralizzanti, cosicché le caratteristiche antigeniche della glicoproteina cambiano continuamente e il virus sfugge all'effetto protettivo della risposta immunitaria; 4) diffusione diretta del virus da cellula a cellula in seguito alla formazione di sincizi come risultato dell'effetto citopatico virale; 5) integrazione del genoma virale o del suo DNA provirus nel genoma cellulare che fissa stabilmente nella cellula l'informazione virale.

La struttura genomica dei l., che è stata studiata dettagliatamente soprattutto per l'HIV, è piuttosto complessa. Oltre ai tre geni strutturali tipici dei retrovirus oncogeni, *gag*, *pol*, *env*, codificanti rispettivamente per la proteina capsidica, per la trascriptasi inversa e per la glicoproteina di superficie, il genoma di HIV contiene almeno altri sei geni con funzioni regolatrici, *tat*, *rev*, *vpu*, *vpr*, *vif* e *nef*. I due geni regolatori più importanti sono *tat* e *rev*, il primo per l'elevata attività transattivante la trascrizione del genoma virale, il secondo per la capacità di promuovere il trasporto degli RNA messaggeri tardivi dal nucleo al citoplasma. Si attua così il passaggio dalla fase precoce dell'infezione alla sintesi delle proteine strutturali del capside e del pericapside virale, seguita dalla maturazione dei virioni e dal compimento del ciclo litico. V. anche: SINDROME DA IMMUNODEFICIENZA ACQUISITA; RETROVIRUS*.

Fra le infezioni virali lente non sostenute da l. propriamente detti, la *panencefalite subacuta sclerosante* (PESS o SSPE: *Subacute Sclerosing Panencephalitis*) o encefalite a inclusioni di Dawson o leucoencefalite subacuta sclerosante di Van Bogaert, è una grave affezione che colpisce i bambini nella seconda infanzia. Essa rappresenta una complicazione tardiva del morbillo, come è dimostrato dai seguenti risultati, ottenuti dallo studio dei pazienti: 1) un alto tasso di anticorpi neutralizzanti e inibenti l'emoagglutinazione verso il virus del morbillo nel siero e nel liquor; 2) la presenza di inclusioni eosinofile, di nucleocapsidi tipici dei paramixovirus e degli antigeni del virus del morbillo nei neuroni e nelle cellule gliali; 3) isolamento, da biopsie cerebrali coltivate *in vitro*, di una variante del virus del morbillo che riproduce sperimentalmente nei roditori il quadro della malattia umana. V. anche: MORBILLO (IX, 1903; MORBILLO*).

Il virus della SSPE si distingue dal virus del morbillo per mutazioni e riarrangiamenti nel genoma virale che determinano mancanza, scarsa produzione o modificazioni strutturali di tre proteine del pericapside virale: la proteina M, l'emoagglutinina e la proteina responsabile della fusione cellulare. Poiché queste tre proteine sono necessarie sia per l'inizio dell'infezione che per la maturazione dei virioni alla fine del ciclo litico, la loro alterazione spiega alcuni fenomeni che si verificano nel corso della SSPE, quali la scarsa produzione di virus infettante e la lenta diffusione dell'infezione da cellula a cellula, prevalentemente per processi di fusione. È possibile prevenire la SSPE con la vaccinazione. Infatti nei paesi dove la vaccinazione antimorbillo è praticata da più di un decennio si è osservato che nei bambini vaccinati la frequenza della SSPE, come pure delle compli-



Digitized by Google

TAB. I. PRINCIPALI INFEZIONI VIRALI LENTE DELL'UOMO E DEGLI ANIMALI

| Malattia | Agente etiologico | Ospite naturale |
|---|---|---|
| A. *Infezioni lente sostenute da virus convenzionali* | | |
| Maedi-Visna | Lentivirus | Pecora |
| Artrite ed encefalite della capra | Lentivirus | Capra |
| Anemia infettiva del cavallo | Lentivirus | Cavallo |
| Sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS) | Lentivirus-HIV | Uomo |
| Sindrome da immunodeficienza della scimmia (SAIDS) | Lentivirus-SIV | Scimmia |
| Sindrome da immunodeficienza del gatto | Lentivirus-FIV | Gatto |
| Panencefalite subacuta sclerosante (PESS o SSPE) | Virus del morbillo | Uomo |
| Leucoencefalite progressiva multifocale | Papovavirus JC | Uomo |
| Sclerosi multipla | Virus del morbillo (?)<br>Retrovirus HTLV-I (?) | Uomo |
| B. *Infezioni lente sostenute da agenti simil-virali non convenzionali* | | |
| Kuru | Non classificato | Uomo |
| Malattia di Jakob-Creutzfeldt | Non classificato | Uomo |
| Malattia di Gerstmann-Sträussler | Non classificato | Uomo |
| *Scrapie* | Non classificato | Pecora |
| Encefalopatia del visone | Non classificato | Visone |
| Sindrome cronica devastante del cervo e dell'alce | Non classificato | Cervo e alce |
| Encefalopatia spongiforme dei bovini | Non classificato | Bovini |

cazioni immediate del morbillo (polmonite, encefalite acuta), è fortemente ridotta (v. MORBILLO*).

La *leucoencefalite progressiva multifocale* (LPM) è una encefalopatia demielinizzante subacuta la quale insorge come complicazione finale di varie malattie che si accompagnano a un grave stato di immunodeficienza o di immunosoppressione. La LPM è causata dal virus JC il quale, insieme con il virus BK, fa parte dei papovavirus (v.) umani. Il virus JC non è latente nel cervello, il quale viene invaso dal virus, evidentemente dotato di uno spiccato neurotropismo, quando esso si riattiva nel rene, sua normale sede di latenza, in seguito a condizioni che determinano immunosoppressione. Una sindrome identica alla LPM umana è prodotta dall'SV40 nella scimmia.

La *sclerosi multipla* o *sclerosi a placche* (v.) ha probabilmente un'etiologia infettiva per le seguenti osservazioni epidemiologiche: 1) la curva dell'età di inizio della malattia è molto simile a quella che si osserva per la maggior parte delle malattie infettive, cioè è unimodale con un rapido aumento e un altrettanto rapido declino, con un picco netto intorno ai 30 anni e pochi casi prima dei 15 e oltre i 55 anni; 2) esiste un gradiente geografico di incidenza crescente in senso sud-nord, essendo la malattia quasi sconosciuta all'equatore e raggiungendo una prevalenza di 40-50 casi su 100.000 persone nelle latitudini nord; un simile gradiente è tipico anche di alcune malattie infettive ad etiologia virale, per esempio la poliomielite paralitica; 3) persone che, dopo la prima adolescenza, emigrano da aree ad alto rischio in aree a basso rischio mantengono il loro alto rischio ad ammalare; 4) l'alta incidenza familiare, in assenza di maggiore incidenza fra i gemelli monocoriali rispetto ai gemelli bicoriali e di maggiore incidenza coniugale, sottolinea l'importanza dell'esposizione a fattori ambientali nell'infanzia, mentre sembrano trascurabili fattori che agiscono in età successive o influenze genetiche in senso stretto.

Una interpretazione plausibile di questa epidemiologia è l'esposizione ad un agente causale prima della pubertà e una latenza molto lunga, variabile fra i 3 e i 23 anni, prima dell'inizio della malattia. Negli ultimi quarant'anni più di venti virus sono stati incriminati come possibile causa della sclerosi multipla, ma finora nessuno è stato confermato come un sicuro agente etiologico. I candidati più consistenti sono i paramixovirus, in particolare il virus del morbillo, e i retrovirus T-linfotropici antigenicamente correlati al virus HTLV-I. Infatti anticorpi anti-HTLV-I sono stati evidenziati nel siero e nel liquor, mentre sequenze nucleotidiche correlate al provirus di HTLV-I sono state individuate con tecniche di amplificazione genica nei monociti e macrofagi di pazienti affetti da sclerosi multipla.

Gli agenti similvirali non convenzionali sono causa delle encefalopatie subacute spongiformi trasmissibili dell'uomo (Kuru [v.], malattia di Jakob-Creutzfeldt [v. JAKOB-CREUTZFELDT, MALATTIA DI], malattia di Gerstmann-Sträussler [v. GERSTMANN-STRÄUSSLER, SINDROME DI]*) e di alcune specie animali (*scrapie* che colpisce gli ovini, encefalopatia del visone, encefalopatia spongiforme dei bovini e sindrome cronica devastante del cervo e dell'alce). Gli agenti etiologici di queste malattie sono caratterizzati, rispetto ai virus tradizionali, da una singolare resistenza agli agenti fisici e chimici oltre che dalla mancanza di immunogenicità e dalla incapacità di indurre la sintesi di interferone e di subirne l'effetto. Le caratteristiche morfologiche e strutturali e le proprietà biologiche di questi agenti sono ancora largamente sconosciute.

La grande resistenza di queste entità similvirali agli agenti inattivanti gli acidi nucleici (radiazioni ultraviolette e ionizzanti, DNAsi e RNAsi) suggerisce che essi siano privi di genoma oppure che possiedano un genoma di dimensioni molto ridotte, con un modestissimo contenuto di informazione. Ciò solleva il problema del meccanismo di replicazione di questi agenti infettanti. D'altra parte la loro sensibilità alle sostanze che denaturano le proteine (fenolo, enzimi proteolitici, urea e soluzioni saline ad alta forza ionica) e i carboidrati (periodato di sodio o di potassio) indica che strutture glicoproteiche sono importanti per la loro infettività. È stato perciò suggerito di chiamare *prioni* (dai suffissi *pr* per proteine ed *oni* per entità, ovvero entità proteiche) gli agenti etiologici delle encefalopatie spongiformi.

I prioni sono stati purificati: essi sono costituiti da una glicoproteina di 27.000-30.000 d nello *scrapie* e da una glicoproteina di 35.000 d nella malattia di Jakob-Creutzfeldt. Le due glicoproteine sono antigenicamente simili. Secondo alcuni ricercatori i prioni sono infettanti e responsabili della trasmissione della malattia. Essi si aggregano a formare



Digitized by Google

delle tipiche strutture fibrillari, morfologicamente molto simili alle fibrille di sostanza amiloide (un aggregato di varie glicoproteine) che si osservano in alcune malattie degenerative cerebrali. Invece, secondo l'evidenza di altri AA. sia i prioni che gli aggregati fibrillari potrebbero essere semplicemente dei prodotti patologici, per quanto specifici, dei cervelli infetti senza rappresentare gli agenti infettanti delle encefalopatie spongiformi (v. anche: PRIONI).

Il gene che codifica per la proteina dei prioni è un gene dell'ospite. Nella cellula umana esso è situato nel braccio corto del cromosoma 20. In due casi di sindrome di Gerstmann-Sträussler questo gene è stato clonato e ne è stata determinata la sequenza nucleotidica. In ambedue i casi il gene era alterato dalla stessa mutazione puntiforme che determinava la sostituzione di una prolina con una leucina nella sequenza aminoacidica della proteina del prione. Questa importante osservazione giustifica l'ereditarietà di questa sindrome e contemporaneamente suggerisce che i prioni siano proteine cellulari normali che divengono causa di malattia e acquisiscono l'infettività quando la loro struttura è modificata in seguito a mutazioni.

**Bibliografia**

Cann A. J. *et al.*, *AIDS*, 1989, **3** (Suppl. 1), S19.
Cheevers W. P. *et al.*, *Adv. Virus Res.*, 1988, **34**, 189.
Clements J. E. *et al.*, *Annu. Rev. Immunol.*, 1988, **6**, 139.
Kristensson K. *et al.*, *Annu. Rev. Microbiol.*, 1986, **40**, 159.
Pedersen N., *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.*, 1989, **33**, 413.
Prusiner S. B., *Adv. Virus Res.*, 1984, **29**, 1.
Prusiner S. B., *Adv. Virus Res.*, 1988, **35**, 83.
Prusiner S. B., *Annu. Rev. Microbiol.*, 1989, **43**, 345.

GIUSEPPE BARBANTI-BRODANO

## LESCH-NYHAN, SINDROME DI

SOMMARIO



### Introduzione

Malattia ereditabile legata al sesso, unigenica, caratterizzata dalla mancata produzione dell'enzima ipoxantina-guanina fosforibosiltransferasi (HPRT: *Hypoxantine-Guanine Phosphoribosil Transferase*) e, clinicamente, da coreoatetosi, spasticità, ritardo mentale e tendenza all'automutilazione.

La sindrome, anche se rara, è stata attentamente studiata negli ultimi anni nella prospettiva d'impiegare come strumento terapeutico la terapia genica mediante il trapianto di cellule midollari contenenti copie del gene sano.

### Genetica e biochimica

La sindrome è stata scoperta e identificata nel 1964 da Michael Lesch, allora studente di medicina, e da William Nyhan, un pediatra della John Hopkins School of Medicine; le sue basi genetiche e biochimiche sono state chiarite nel 1967 da Seegmiller *et al.* Il gene responsabile della sintesi dell'enzima è presente sul cromosoma X ed è stato localizzato sul *locus* Xq26-q27. La sequenza nucleotidica totale, lunga all'incirca 44 kbasi, comprende 9 diverse sequenze nucleotidiche codificanti (esoni) tra le quali si trovano frammenti non codificanti (pseudogeni).

Trattandosi di una malattia legata al cromosoma X, la sindrome di Lesch-Nyhan colpisce solo gli uomini nei quali l'alterazione viene ereditata da una donna portatrice, o risulta da una nuova mutazione delle cellule germinali. La condizione di portatore può essere rivelata mediante uno studio dell'attività dell'HPRT su cellule, come fibroblasti o linfoblasti.

L'enzima HPRT è una delle 10 fosforibosiltransferasi presenti in molti organismi, dove questi enzimi partecipano alla biosintesi di purine, pirimidine, istidina e triptofano. Nella specie umana, in particolare, l'HPRT entra in uno dei due processi di sintesi dei nucleotidi purinici adenosina 5-monofosfato (AMP) e guanosina 5-monofosfato (GMP), sintesi che in condizioni normali avviene in due modi, o *ex novo*, oppure attraverso il recupero di purine libere. In questo secondo caso le basi libere, derivanti dalla degradazione dei corrispondenti nucleotidi, vengono recuperate e riusate più volte per riformare nucleotidi e proprio in questo processo interviene l'HPRT. In particolare, l'enzima catalizza la condensazione della guanina e dell'ipoxantina, prodotto di deaminazione dell'adenina, con il 5-fosforibosil-1-pirofosfato (PRPP) e dunque la formazione dell'ac. guanilico e inosinico rispettivamente.

Nel caso della s. di L.-N., pertanto, è bloccata la via di sintesi mediante recupero, mentre l'altra, quella *ex novo*, continua a essere attiva. Paradossalmente, però, il difetto biochimico non comporta un deficit produttivo dei nucleotidi ma, al contrario e per ragioni ancora sconosciute, una loro sovraproduzione responsabile, tra l'altro, della maggiore produzione di ac. urico nell'organismo. L'iperuricemia è quindi un carattere sempre presente nella malattia, insieme all'aumentata eliminazione di ac. urico, la cui escrezione renale sale dai normali valori di 1-14 mg/kg di peso nelle 24 h sino a 25-180 mg.

L'enzima HPRT, costituito da una proteina lunga 217 aminoacidi, è espresso in tutte le cellule e, a livelli particolarmente alti, nei gangli della base.

Sono state identificate diverse alterazioni del gene dell'HPRT e solo alcune di queste sono responsabili dell'assenza, ovverosia della mancata produzione, dell'enzima in questione. Molte altre mutazioni determinano piuttosto una diminuzione della produzione enzimatica cui si associa clinicamente un'artrite gottosa.

In caso di s. di L.-N. le autopsie non individuano alterazioni particolari oltre alla nefropatia ostruttiva associata all'iperuricemia.

### Fisiopatologia

Nonostante le numerose indagini condotte sull'argomento, resta ancora oscuro il meccanismo che lega l'alterazione biochimica alla sintomatologia clinica e, in particolare al danno neurologico. Poiché i nucleotidi guaninici regolano il legame dopamina-recettore e dunque la funzione dopaminergica, è stato ipotizzato che in qualche modo il difetto enzimatico determini un difetto di sviluppo dei neuroni dopaminergici nigrostriatali. Ciò sarebbe confermato, da un lato, da rilievi *post-mortem* sul cervello dei pazienti indicanti una funzionalità ridotta del 70-90% in queste popolazioni cellulari e, dall'altro, dalla presenza di segni derivanti da lesioni del sistema extrapiramidale.

Si ritiene che nello sviluppo normale del sistema nervoso, la azione soppressoria dei neuroni dopaminergici venga compensata da quella facilitatoria di altri sistemi neuronali e che, dunque, la distruzione o, comunque, un danno a carico di uno dei due determini uno «sbilanciamento» come appunto si osserva nei pazienti con s. di L.-N.

### Clinica

La sintomatologia, assente alla nascita, compare intorno ai 3-6 mesi sotto forma di disturbi piramidali ed extrapiramidali. Si tratta all'inizio di movimenti atetoidi della mano e del piede, che assumono nel tempo un carattere coreico, e ai quali si associa disartria. Questo disturbo, tra l'altro, rende difficile identificare e quantificare il ritardo mentale, per lo più di entità moderata. In genere i pazienti hanno un QI oscillante tra 40 e 80.

Tra i sintomi neurologici è piuttosto caratterizzante l'ir-





Digitized by Google

refrenabile *tendenza all'automutilazione*, un disturbo presente in oltre l'85% dei casi e che compare in genere intorno ai 3 anni, ma che può esordire prima o dopo, anche oltre i 14-15. I piccoli pazienti si mordono labbra e mani, battono la testa contro ogni oggetto a loro disposizione e spesso l'unico modo per cercare di frenare quest'azione automutilante è legar loro le braccia o, addirittura, ricorrere all'estrazione dei denti. Questo sintomo ha un andamento oscillante nel tempo non solo perché, del tutto imprevedibilmente, periodi di automutilazione si associano ad altri in cui il disturbo sembra svanire, ma anche perché nel corso degli anni, in genere oltre gli 11-12, esso tende ad attenuarsi.

I sintomi neurologici tendono a essere meno gravi con un deficit parziale di HPRT, dove comunque compaiono meno di frequente, in genere nel 20% dei casi.

L'aumentata escrezione renale di ac. urico associata all'iperuricemia provoca calcolosi urica e, in seguito, una nefropatia ostruttiva. Rara, al contrario, l'artrite gottosa che accompagna in genere, in più dell'80% dei casi, il deficit relativo di HPRT.

Sono state segnalate anche anomalie ematologiche e, in particolare, anemie megaloblastiche o emolitiche e alterazioni morfologiche delle piastrine.

**Diagnosi e terapia**

La diagnosi della malattia non pone problemi in caso di coesistenza dei sintomi neurologici, renali e dell'iperuricemia. Nei primi anni, però, il quadro può essere confuso con una paralisi cerebrale o con altre malattie del sistema nervoso. L'equivoco è tanto frequente che, in pratica, la malattia è diagnosticata di rado prima che si manifesti la caratteristica tendenza all'automutilazione.

È possibile la *diagnosi prenatale* della sindrome mediante amniocentesi o biopsia dei villi coriali.

Nessuna delle varie terapie sintomatiche tentate nella s. di L.-N. ha dato risultati soddisfacenti. Lo stesso allopurinolo, utile nel ridurre l'iperuricemia, è stato impiegato con successo nella cura dei deficit parziali di HPRT, caso in cui consente un ottimo controllo dei sintomi, ma non è stato di alcuna utilità nella malattia.

La gravità della s. di L.-N. e la mancanza di ogni possibile terapia, unitamente alla natura unigenica del disturbo, hanno fatto ipotizzare negli ultimi anni il ricorso alla terapia genica. Sin dall'inizio degli anni '80 si è visto che copie del gene sano vengono incorporate nel genoma di cellule umane malate coltivate in laboratorio, che queste copie funzionano normalmente correggendo il deficit biochimico e che vengono trasmesse alle cellule figlie. I vettori più affidabili per la transfezione, ovverosia per il trasferimento del gene all'interno delle cellule, sembrano sinora dei retrovirus contenenti copie del gene umano sano. Le indagini sinora condotte hanno dimostrato che i virus transfettanti sono in grado di penetrare all'interno di cellule del midollo osseo prelevate dall'ospite, ma non è affatto chiaro se, e comunque sino a che punto, il reimpianto delle cellule midollari possa condizionare positivamente il decorso della sintomatologia neurologica. In un primo tentativo effettuato su un paziente di 22 anni, le cellule transfettate hanno popolato il midollo, ma non si è osservato alcun apprezzabile miglioramento del quadro neurologico.

**Bibliografia**

Jolly R. D., *Horiz. Biochem. Biophys.*, 1986, **8**, 123.
Lesch M., Nyhan W. L., *Am. J. Med.*, 1964, **36**, 561.
Nyhan W. L. *et al.*, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1986, **195 (A)**, 167.
Seegmiller J. E., Rosenbloom F. M., Kelley W. N., *Science*, 1967, **155**, 1682.

STEFANO CAGLIANO

## LESIONI PERSONALI [v. vol. VIII, col. 1449].

SOMMARIO



**Nozioni di lesione personale**

Le lesioni personali rientrano nei delitti contro la persona contemplati nel codice penale al titolo XII che si articola in tre Capi volti alla tutela dei beni essenziali dell'individuo, rappresentati rispettivamente dalla vita e l'incolumità, l'onore e la libertà. Ciò che qui interessa è il Capo I che attiene alla «vita e incolumità individuale», quest'ultima, quale bene giuridico protetto, intesa come integrità psicofisica della persona nelle sue proiezioni interindividuali, la cui offesa configura tre distinte ipotesi di reato: *a*) percosse (art. 581); *b*) l. p. volontarie (artt. 582, 583, 585); *c*) l. p. colpose (art. 590).

Art. 582. Lesione personale. «Chiunque cagiona ad alcuno una lesione personale dalla quale deriva una malattia nel corpo e nella mente, è punito con la reclusione da tre mesi a tre anni. Se la malattia ha una durata non superiore ai 20 giorni, e non concorre alcuna delle circostanze aggravanti prevedute dagli artt. 583 e 585, a eccezione di quelle indicate nel n. 1 e nell'ultima parte dell'art. 577, il delitto è punibile a querela della persona offesa».

Va subito rilevato che la differenza fra questa figura delittuosa e il delitto di percosse previsto dall'art. 581 C.P. consiste nel fatto che da quest'ultima ipotesi criminosa non deve derivare «una malattia nel corpo e nella mente», pur rappresentando entrambe le fattispecie due diverse forme di offesa all'incolumità individuale aventi in comune l'elemento soggettivo del reato, la condotta dolosa; piuttosto che sul tipo di azione la legge si indirizza sul tipo di evento.

È sufficiente che l'azione o l'omissione (secondo l'art. 40 C.P., 2° comma, il non contrastare un evento che si ha l'obbligo giuridico di impedire equivale a cagionarlo) sia voluta anche se non violenta e che la condotta si trovi in relazione causale con il verificarsi di una malattia perché si realizzi il delitto di l. p.

**Classificazione delle lesioni personali**

L'art. 583 C.P. contempla una serie di circostanze aggravanti che qualificano la lesione in grave e gravissima.

La l. p. è considerata *grave* e si applica la reclusione da 3 a 7 anni:

1) se dal fatto deriva una malattia che metta in pericolo la vita della persona offesa, ovvero una malattia o un'incapacità di attendere alle ordinarie occupazioni per un tempo superiore a 40 giorni;

2) se il fatto produce l'indebolimento permanente di un senso o di un organo.

La l. p. è *gravissima*, e si applica la reclusione da 6 a 12 anni, se dal fatto deriva:

1) una malattia certamente o probabilmente insanabile;

2) la perdita di un senso;

3) la perdita di un arto, o una mutilazione che renda l'arto inservibile, ovvero la perdita dell'uso di un organo o della capacità di procreare, ovvero una permanente e grave difficoltà della favella;

4) la deformazione, ovvero lo sfregio permanente del viso.

Nel caso poi che le lesioni conseguano ad attentato all'incolumità di una persona per finalità di terrorismo o di eversione dell'ordine democratico opera il nuovo art. 280 del C.P. che stabilisce al 2° comma la pena della reclusione non inferiore ai 18 anni se la lesione è gravissima, e non



6. - Agg. 1***

Digitized by Google

inferiore a 12 anni se la lesione è grave; qualora l'attentato sia rivolto contro persone che svolgono funzioni giudiziarie o penitenziarie ovvero di sicurezza pubblica, le pene sono aumentate di un terzo (3° comma).

Tenuto conto dell'art. 583 che scrimina una forma di l. p. grave da una gravissima a seconda che la malattia sia certamente o probabilmente insanabile e della previsione dell'art. 582 del possibile esaurirsi della stessa in un periodo non superiore ai 20 giorni, pur se non esplicitati, vengono in pratica a configurarsi due altri gradi di l. p.: *lievissima* e *lieve* in funzione di una durata rispettivamente non superiore ai 20 giorni e compresa tra i 21 e i 40 giorni.

**Il bene protetto**

Il bene protetto è l'incolumità personale o, meglio, l'integrità psicofisica della persona, considerata nelle relazioni interindividuali. Per quanto concerne questo argomento si rinvia alla voce LESIONI PERSONALI (VIII, 1451).

**Elemento materiale**

*Nozione di malattia*

L'elemento materiale, od oggettivo, della figura delittuosa in esame è la malattia nel corpo o nella mente, o alcun'altra delle conseguenze che aggravano la lesione, ai sensi dell'art. 583 C.P. Per quanto concerne questo argomento si rinvia alla voce LESIONI PERSONALI (VIII, 1451).

Va incidentalmente ricordato che il nostro ordinamento penale non contempla l'autolesione, come delitto commesso sulla propria persona, se non quando attuata per finalità fraudolenta in danno altrui (art. 642).

*Lesioni gravi*

1. *Malattia che mette in pericolo la vita della persona offesa.* – Il pericolo di vita perché sussista deve essere attuale e non meramente anche se fondatamente prevedibile in base ai criteri di prognosi clinica; deve essere reale e obiettivamente dimostrato, non soltanto potenziale o, sia pure ragionevolmente, presunto. Non si tratta in definitiva di un giudizio prognostico bensì diagnostico.

Occorre pertanto che nel malato ricorrano perturbamenti gravi di almeno una delle principali funzioni (attività cardiocircolatoria, respiratoria o nervosa) che presiedono alla economia generale dell'organismo e tali da configurare un pericolo concreto per la vita del paziente.

È irrilevante, invece, la durata del pericolo purché esso sia concretamente esistito in un dato momento della malattia.

2. *Malattia o incapacità di attendere alle ordinarie occupazioni per più di 40 giorni.* – Come detto, elemento di differenziazione tra i vari gradi del delitto di l. p. è la durata della malattia corrispondendo essa a tutto quel periodo di tempo durante il quale evolvono i fenomeni morbosi reattivi e riparativi e si protraggono i disturbi funzionali, generali e/o locali che lo caratterizzano, il cui esaurirsi peraltro sancisce il momento della guarigione.

Il primo giorno di decorrenza della malattia, in conformità con l'art. 14 C.P. non viene conteggiato nel termine, ma il calcolo inizia dal giorno successivo e nel computo del suo protrarsi vi rientra anche quella maggior durata che, indipendentemente dal fatto del colpevole, sia determinata da preesistenze patologiche della vittima o da complicazioni sopravvenute.

Non si ritiene configurino malattia quegli intimi processi di rimaneggiamento anatomico tessutale che perdurano anche dopo il ripristino funzionale in assenza di espressività clinica così come avviene per le cicatrici chirurgiche e non, i calli ossei, etc.

Il periodo della convalescenza non viene di regola calcolato nella durata della malattia sebbene per talune giurisprudenze, in quanto indispensabile per il completo ristabilimento della salute, esso deve considerarsi «malattia».

È da sottolineare che l'incapacità può essere totale e talora solo parziale, sussistendo anche al di fuori della malattia, come avviene nel caso in cui, esauritasi questa, sia sconsigliabile in via profilattica la ripresa delle attività abituali lavorative o meno o si renda necessario un periodo di adattamento per una soddisfacente utilizzazione di un sussidio protesico.

3. *Indebolimento permanente di un senso o di un organo.* – Per quanto concerne questo argomento si rinvia alla voce LESIONI PERSONALI (VIII, 1453).

*Lesioni gravissime*

Per quanto concerne questo argomento, si rinvia alla voce LESIONI PERSONALI (VIII, 1454).

**Elemento soggettivo: dolo, colpa, colpa professionale**

L'elemento soggettivo della figura criminosa in esame consiste nella volontà e previsione dell'evento, cioè della malattia. Si richiede quella tipica forma della volontà colpevole che il codice penale definisce *dolo*.

«Il delitto è doloso, o secondo l'intenzione, quando l'evento dannoso o pericoloso (nella fattispecie, il pregiudizio all'integrità personale), che è il risultato dell'azione od omissione e da cui la legge fa dipendere l'esistenza del delitto, è dall'agente preveduto e voluto come conseguenza della propria azione od omissione (art. 43 C.P., 1° comma)».

Occorre, quindi, la previsione e la volontarietà della realizzazione dell'evento previsto.

Il codice penale prevede, inoltre, all'art. 590 il delitto di *l. p. colpose*: «... Chiunque cagiona ad altri per colpa una lesione personale è punito con la reclusione fino a 3 mesi o con la multa fino a lire un milione. Se la lesione è grave la pena è della reclusione da 1 a 6 mesi o della multa da lire 400.000 a 2 milioni; se è gravissima, della reclusione da 3 mesi a 2 anni o della multa da lire 1 milione a 4 milioni.

Se i fatti di cui al precedente capoverso sono connessi con violazione delle norme sulla disciplina della circolazione stradale o di quelle per la prevenzione degli infortuni sul lavoro, la pena per le lesioni gravi è la reclusione da 2 a 6 mesi o della multa da lire 400.000 a 1.220.000, e la pena per le lesioni gravissime è della reclusione da 6 mesi a 2 anni o della multa da lire 1.200.000 a 2.400.000.

Nel caso di lesioni a più persone si applica la pena che dovrebbe infliggersi per la più grave delle violazioni commesse, aumentata fino al triplo; ma la pena della reclusione non può superare gli anni 5.

Il delitto è punibile a querela della persona offesa, salvo nei casi previsti dal primo e secondo capoverso, limitatamente ai fatti commessi con violazione delle norme per la prevenzione degli infortuni sul lavoro o relative all'igiene del lavoro che abbiano determinato una malattia professionale».

Per la sussistenza della l. p. colposa occorre un comportamento attribuibile al volere del soggetto, e la mancanza di quella volontà dell'evento (malattia) che caratterizza il dolo. In questa ipotesi delittuosa l'agente ha realizzato il fatto previsto dalla legge come reato, con una condotta che risale alla sua volontà, ma non lo ha voluto direttamente né indirettamente. L'evento malattia, anche se preveduto, non è voluto dall'agente e si verifica a causa di negligenza o imprudenza o imperizia, ovvero inosservanza di leggi, regolamenti, ordini o discipline (art. 43 C.P., 3° comma).

Va sottolineato che alla l. p. colposa non si applicano le aggravanti speciali degli artt. 576, 577 né quelle pure spe-





Digitized by Google

ciali dell'art. 585 C.P. relative ai mezzi di produzione della lesione dolosa; si applicano invece le aggravanti comuni dell'art. 61 C.P. e in particolare l'aver agito nonostante la previsione dell'evento.

Trovano applicazione le attenuanti comuni all'art. 62 C.P. tra cui il concorso determinante della persona offesa, il ravvedimento attivo e spontaneo del colpevole ovvero il risarcimento del danno prima del giudizio nonché quelle generiche di cui all'art. 62 *bis* di volta in volta individuate dal giudice.

Per le lesioni volontarie si procede d'ufficio e vi è quindi obbligo di referto o di rapporto (quest'ultimo per i medici pubblici), tranne che per quelle lievissime se non si configurano come gravi per il concorrere delle circostanze previste dagli artt. 576, 577 (uso di sostanze venefiche o altro mezzo insidioso, la premeditazione, i futili motivi, le sevizie e la crudeltà) e 585.

Devono considerarsi assimilabili alle armi propriamente dette (art. 585 C.P.) tutti quegli strumenti e utensili di cui al Testo Unico delle leggi di pubblica sicurezza con successive modificazioni ed integrazioni che ne vietano il porto, o in modo assoluto o senza giustificato motivo, con il risultato che le relative l. p. volontarie risultando aggravate, impongono l'obbligo del referto o del rapporto indipendentemente dalla durata della malattia.

Per lesioni colpose non si fa più distinzione quale che sia il loro grado: tutte, lievissime o lievi, gravi o gravissime sono punibili soltanto a querela della persona offesa e pertanto non comportano obbligo di referto o di rapporto. Obbligo che invece interviene per quelle lesioni colpose gravi e gravissime che siano conseguenza di fatti commessi con violazione di norme concernenti la prevenzione degli infortuni sul lavoro o relative all'igiene del lavoro o che abbiano determinato una malattia professionale (art. 92, legge 24 novembre 1981, n. 689).

Per quanto concerne la *colpa professionale del medico*, si rinvia alle coll. 1456-1457 della voce LESIONI PERSONALI.

**Bibliografia**


Canuto G., Tovo S., *Medicina legale e delle assicurazioni*, 1989, Piccin, Padova.
Cazzaniga A., Cattabeni C. M., Luvoni R., *Compendio di medicina legale e delle assicurazioni*, 1988, UTET, Torino.
Chiodi V., *Manuale di medicina legale*, 1978, Vallardi, Milano.
Conso G., di Majo A., *I 4 codici e leggi complementari*, 1987, Giuffrè, Milano.
Fallani M., *Medicina legale e delle assicurazioni*, 1988, Società Editrice Esculapio, Bologna.
Franchini A., *Medicina legale*, 1985, Cedam, Padova.
Gerin C., Antoniotti F., Merli S., *Medicina legale e delle assicurazioni*, 1986, SEU, Roma.
Gilli R., *Compendio di medicina legale e delle assicurazioni*, Società Editrice Esculapio, Bologna.
Macchiarelli L., *Lesioni personali*, in *Enciclopedia Medica Italiana*, 1979, vol. VIII, USES, Firenze.
Puccini C., *Istituzioni di medicina legale*, 1984, Ambrosiana, Milano.
Zangani P., Palmieri V. M., Sciaudone G., *Manuale di medicina legale e delle assicurazioni*, 1985, Morano, Napoli.


LUIGI MACCHIARELLI E LUIGI TONINO MARSELLA

## LEUCEMIE [v. vol. VIII, col. 1468]

SOMMARIO GENERALE



## RETROVIRUS UMANI E LEUCEMIE (VII, 1490)

SOMMARIO



### Premessa

I primi tentativi per svelare virus nelle cellule leucemiche umane sono stati effettuati negli anni '60 utilizzando la microscopia elettronica. Particelle «similvirali», con aspetto morfologico ravvicinabile cioè ai retrovirus tipo C o ai loro precursori, sono state sporadicamente osservate, ma la loro ulteriore caratterizzazione non è stata realizzata per la mancanza, all'epoca degli esperimenti, di adeguate tecniche virologiche e biochimiche.

Un notevole passo in avanti è stato compiuto con la scoperta della RT (*reverse transcriptase: trascrittasi inversa*) e con la messa a punto di metodi di biologia molecolare che hanno consentito di accertare l'esistenza di sequenze di DNA virale nelle leucemie indotte da retrovirus in numerose specie animali. La ricerca di RT in cellule e tessuti leucemici umani è stata applicata estesamente, soprattutto dai gruppi di R. C. Gallo, S. Spiegelman e G. Todaro.

Un'ulteriore importante innovazione, che ha contribuito in maniera determinante all'identificazione dei retrovirus umani, è stata la identificazione del fattore di crescita per i linfociti T o TCGF (successivamente chiamato interleuchina-2, o IL-2), effettuata nel laboratorio di Gallo. L'addizione di IL-2 a una coltura di linfociti T consente infatti la sopravvivenza e la replicazione di queste cellule per tempi sufficientemente lunghi (anche mesi) per studiare il comportamento *in vitro*. Questo metodo, oltre che dare rilevanti informazioni agli immunologi per la caratterizzazione delle sottopopolazioni linfocitarie T, ha permesso di evidenziare agenti retrovirali in cellule leucemiche umane.

### HTLV-I e *Adult T-Cell Leukemia*

#### *Introduzione*

Dopo una serie iniziale di insuccessi Gallo *et al.* nel 1980 hanno isolato un retrovirus, denominato HTLV-1 (virus umano T-linfotropico, tipo I), a partire da cellule neoplastiche di un paziente con linfoma cutaneo.

Questi studi, successivamente confermati in altri pazienti, hanno stabilito che alcune peculiari forme leucemiche, designate con la sigla ATL (*Adult T-Cell Leukemia* o ATLL per *Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma*) sono correlate etiologicamente con HTLV-I. Già negli anni '70 AA. giapponesi avevano richiamato l'attenzione su una nuova entità nosologica, da loro appunto definita ATL, contrassegnata da insolita presentazione anatomoclinica (tab. I) e osservata in *clusters* nelle regioni sud-occidentali del Giappone. Indagini epidemiologiche svolte in seguito hanno rilevato che la patologia rappresentata da ATL è presente in forma endemica anche nelle isole del bacino Caraibico e nell'Africa centrale; casi sporadici, per lo più rappresentati da soggetti nativi in aree endemiche, sono stati anche riportati negli U.S.A., Sud America, Europa.

Le caratteristiche principali delle ATL sono riassunte nella tab. I. L'età adulta, con picco nella sesta decade, una leggera prevalenza del sesso maschile (1,4:1) e l'esteso interessamento cutaneo hanno inizialmente fatto considerare queste forme ravvicinabili alla micosi fungoide. Tuttavia, l'insieme sintomatologico e i dati morfologici e molecolari degli elementi cellulari neoplastici consentono un'adeguata differenziazione diagnostica.




Digitized by Google

**TAB. I. CARATTERISTICHE PRINCIPALI DELLE LEUCEMIE A CELLULE T DELL'ADULTO (ATL)**

| |
|---|
| Distribuzione endemica (Giappone, Caraibi, Africa centrale) |
| Insorgenza in età adulta |
| Andamento aggressivo |
| Interessamento cutaneo frequente |
| Linfoadenopatie; epatosplenomegalia |
| Ipercalcemia abituale |
| Segni di immunodeficienza; infezioni opportunistiche |
| Cellule leucemiche con nucleo convoluto e fenotipo CD4+ |
| HTLV-I nelle cellule leucemiche; integrazione monoclonale del provirus nel DNA ospite |
| Antigeni virali e RT evidenziabili nelle cellule leucemiche coltivate *in vitro* |
| Anticorpi verso proteine HTLV-I svelabili nel siero e in altri fluidi biologici |

Le cellule neoplastiche possiedono un tipico nucleo convoluto plurilobato e un fenotipo T CD4+. Le cellule del sangue periferico o da materiale bioptico fresco non esprimono antigeni virali, né al microscopio elettronico mostrano particelle virali; tuttavia, se coltivati *in vitro*, anche per pochi giorni, i linfociti leucemici divengono chiaramente positivi per antigeni virali (p24, p15) in immunofluorescenza; particelle virali morfologicamente simili a retrovirus tipo C sono evidenti al microscopio elettronico, e nel sovranatante di coltura si rinviene RT. Queste osservazioni indicano che il genoma virale *in vitro* è fortemente ristretto nella sua espressione, forse attraverso un fenomeno di metilazione delle sequenze provirali, e suggeriscono che l'assenza di antigeni virus-specifici sulla superficie delle cellule neoplastiche può facilitare la loro crescita in mancanza di riconoscimento e di conseguente lisi da parte del sistema immunitario dell'ospite.

Lo studio molecolare del tessuto leucemico, utilizzando una sonda specifica per HTLV-I, consente di stabilire che la popolazione cellulare neoplastica è monoclonale per quanto riguarda il profilo di integrazione virale nel DNA ospite, particolare rilevante questo per la patogenesi della neoplasia.

Va anche notato che nel quadro clinico figurano infezioni opportunistiche, imputabili verosimilmente alla compromissione leucemica della sottopopolazione linfocitaria T *helper*; comunque segni di immunodeficienza in soggetti con ATL hanno certamente contribuito a far erroneamente ritenere, nei primi anni dell'epidemia, che l'AIDS fosse causata dall'infezione con HTLV-I o con un retrovirus molto simile.

*HTLV-I e neuropatie*

Un'interessante associazione tra sieropositività per HTLV-I e sindromi neurologiche è stata anche riportata da alcuni gruppi di ricercatori (cfr. tab. II). Queste neuropatie sono state designate con i termini di paraparesi spastica tropicale (TSP) e mielopatia associata a HTLV-I (HAM) e sono particolarmente osservate in Giamaica, in Martinica e in Giappone. Si tratta di forme progressive di paraparesi o paraplegia spastica con segni piramidali, perdita di capacità sensoriale e occasionale incontinenza sfinterica; anticorpi specifici per HTLV-I sono presenti nel siero e nel liquor di tali pazienti, e linfociti con nucleo lobulato, morfologicamente analoghi a quelli riscontrati nell'ATL, sono dimostrabili anche nel liquor. È possibile che forme di mielopatie fruste legate a infezione con HTLV-I, interpretate come sclerosi multipla, siano responsabili dei controversi risultati riportati circa la positività anticorpale e molecolare specifica per HTLV-I in malati con sclerosi multipla.

*Epidemiologia dell'infezione da HTLV-I*

È stata estesamente studiata: i *clusters* di ATL osservati, come già detto, in Giappone hanno consentito di dimostrare che il virus è endemico in molte regioni meridionali del Giappone, ma anche nel bacino Caraibico, nelle regioni settentrionali del Sud America, in alcune aree degli Stati Uniti e in Africa centrale, mentre casi sporadici sono stati segnalati in Europa. In Italia, una significativa sieroprevalenza di anticorpi per HTLV-I è stata inizialmente rilevata nella popolazione generale di alcune provincie della Puglia, in particolare nel Salento; non è tuttavia ancora chiaro se tale reattività anticorpale rifletta una vera infezione con HTLV-I, o con retrovirus correlati, ovvero sia imputabile a una reazione crociata con antigeni comuni.

La modalità di diffusione del virus in situazioni di endemia naturale è principalmente di tipo materno-infantile, attraverso l'allattamento. La trasmissione per via parenterale con trasfusioni, derivati ematici, uso promiscuo di siringhe è anche possibile e rappresenta un'eventualità concreta nelle categorie di individui esposti a rischio per AIDS. In realtà casi di doppia infezione HTLV-I e HIV-I sono da tempo noti e, in accordo con quanto osservato in Trinidad, sembrano anche avere influenza sfavorevole nella progressione sintomatologica verso l'AIDS.

Va ricordato che, soprattutto sulla base dei dati giapponesi, il periodo di latenza tra infezione e sviluppo di ATL è molto lungo, in media 20-30 anni, e ciò deve essere tenuto in considerazione nella interpretazione patogenetica dell'ATL.

*Patogenesi*

Il genoma dei retrovirus umani mostra una struttura molecolare più complessa rispetto a quella degli altri retrovirus.

**TAB. II. RETROVIRUS UMANI**

| Sottofamiglia | Prototipo | Patologia associata | Possibile meccanismo di oncogenesi |
|---|---|---|---|
| *Oncovirus* | HTLV-I | Linfomi T dell'adulto<br>Neuropatie<br>Infezioni opportunistiche | Transattivazione (gene *tax* trasformante?) |
| | HTLV-II | Linfomi cutanei (?)<br>Leucemia a cellule capellute (?) | — |
| *Lentivirus* | HIV-I e HIV-2 | AIDS<br>Linfomi B<br>Sarcoma di Kaposi<br>Morbo di Hodgkin (?)<br>Carcinomi (?) | Meccanismo «indiretto» (proliferazione cellulare indotta da citochine e altri fattori solubili attivatori di geni cellulari) |



Digitized by Google

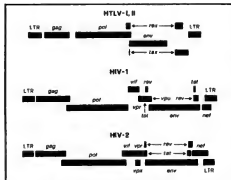



Fig. 1. Genoma dei retrovirus umani. I geni *gag*, *pol*, *env*, sono presenti sia in HTLV-I e II che in HIV: *gag*) codifica per l'RNA virale; *pol*) codifica per le proteine strutturali; *env*) codifica per le proteine dell'involucro. Nuova nomenclatura di alcuni altri geni (tra parentesi la denominazione precedente). *Geni di HTLV-I e HTLV-II*: *tax*, transattivatore delle proteine virali (*tat*); *rex*, regolatore dell'espressione di proteine virioniche (*pp27x*, *tel*). *Geni di HIV*: *tat*, transattivatore di tutte le proteine virali (*tat-3*, *TA*); *rev*, regolatore dell'espressione di proteine virioniche (*art*, *trs*); *vif*, determina l'infettività virale (*sor*); *nef*, riduce l'espressione virale (*3'orf*). (*Da R. C. Gallo et al., Nature, 1988, 333, 504, modificata*).

Infatti, oltre ai geni strutturali *gag*, *pol*, *env*, che codificano proteine virioniche, sono presenti altri geni il cui prodotto proteico assume importanti funzioni regolatrici sulla trascrizione del provirus e, in definitiva, sulla replicazione virale. Nell'HTLV-I (fig. 1) il gene *tax* codifica per una proteina con p.m. di 40-42 kd ($p40^{tax I}$) la cui funzione precipua è quella di attivare sequenze nucleotidiche virali distanti («transattivazione») agendo principalmente sulle sequenze ripetitive terminali (LTR); inoltre, la $p40^{tax I}$ ha la capacità di transattivare anche geni cellulari, quali quelli deputati alla sintesi del recettore per IL-2, della stessa IL-2 e di altre citochine (TNF β, GM-CSF) e, come sarà detto più avanti, assume pertanto un ruolo importante nel determinare la capacità «immortalizzante» nei linfociti ospiti.

L'infezione *in vitro* di linfociti T con HTLV-I si realizza comunemente coltivando, in un terreno addizionato con IL-2, linfociti da sangue periferico o, meglio, da sangue di cordone ombelicale, con cellule stabilmente infettate e producenti virus, irradiate per bloccare la replicazione, le quali fungono da donatrici di virus. La cinetica di infezione è relativamente lenta e solo dopo 2-3 settimane alcune cellule (1-5%) mostrano positività per antigeni virali; successivamente si osserva una progressiva selezione di linfociti CD4+ *tac*+, che esprimono antigeni virali e mostrano un profilo policlonale di integrazione provirale. Dopo 2-3 mesi di coltura i linfociti nel 70-80% risultano infettati, hanno morfologia simile alle cellule dell'ATL e, all'analisi del DNA, rivelano sequenze virali integrate in modo oligo-monoclonale. La coltura è considerata quindi stabilizzata («immortalizzata») e la replicazione cellulare si verifica anche in presenza di bassi livelli di IL-2 esogena, verosimilmente a causa della produzione costitutiva di IL-2 endogena.

Lo studio delle modalità di infezione *in vitro* ha fornito utili informazioni per la formulazione di ipotesi patogenetiche dell'ATL. Va innanzitutto ricordato che l'HTLV-I non possiede nel proprio genoma un oncogène, né è integrato nel DNA ospite in posizioni adiacenti a oncogèni noti: quindi i meccanismi di trasformazione cellulare invocati per i retrovirus «acuti» (dotati di oncogène) e, rispettivamente, «cronici» che inserendosi nel genoma ospite possono attivare in *cis* sequenze cellulari adiacenti (mutagenesi inserzionale), non sembrano essere possibili.

È stata quindi proposta da Gallo *et al.*, e con qualche variazione da Yoshida, la seguente ipotesi: a seguito di infezione con HTLV-I nei linfociti T i geni per IL-2, e per il recettore IL-2, sono transattivati a opera della $p40^{tax I}$ e codificano quindi per i rispettivi prodotti dando origine a un circuito autocrino di autostimolazione. Ne consegue che i linfociti proliferano indipendentemente da stimoli antigenici e, poiché la $p40^{tax I}$ transattiva anche geni virali che codificano per antigeni espressi sulla superficie citoplasmatica, queste cellule sono riconosciute dal sistema immunitario dell'ospite e eliminate. Per eventi genetici successivi si può talvolta verificare una selezione di cloni T cellulari che esprimono costitutivamente il recettore per IL-2, in assenza di livelli svelabili di p40 e di antigeni virali: questi linfociti si espandono non essendo distrutti dalle difese immunitarie e, per sopraggiunte ulteriori anomalie del DNA, subiscono una definitiva trasformazione neoplastica da cui prenderà origine la popolazione cellulare leucemica.

Questo modello multifasico secondo cui l'ATL si svilupperebbe a partire da un'autostimolazione linfocitaria autocrina generata dall'infezione con HTLV-I è evidentemente semplicistico e schematico, anche se rende ragione del fatto che solo una piccola percentuale (meno dell'1%) di individui infettati con HTLV-I ammala di ATL, di solito con una latenza di 20-30 anni tra infezione iniziale e comparsa della sintomatologia tumorale. Inoltre nei casi di pre-ATL o di ATL indolenti (*smouldering*) descritti, solo una minoranza di linfociti T periferici risulta infettata e morfologicamente abnorme, mentre in altri casi cellule a fisionomia leucemica mostrano l'integrazione del provirus ancora di tipo policlonale. Va infine tenuto presente che anomalie cromosomiche specifiche per l'ATL non sono state osservate, anche se sono state riportate frequenti trisomie a carico del cromosoma 7 e traslocazioni del cromosoma 14. D'altra parte, a seguito dell'infezione *in vitro* con HTLV-I, i linfociti T mostrano un aumento della frequenza di scambi tra cromatidi fratelli e di aberrazioni cromosomiche, e ciò può costituire un possibile evento mutageno additivo, relativamente precoce, responsabile dell'evoluzione dei cloni cellulari verso l'autonomia leucemica.

## HTLV-II

Questo virus è stato originariamente isolato da una paziente con l. a cellule capellute (*Hairy Cell Leukemia*; v. TRICOLEUCEMIA*), variante T cellulare. Recentemente altri isolati sono stati ottenuti da un paziente con AIDS, da pazienti con l. con interessamento cutaneo, e da soggetti emofilici e tossicodipendenti sieropositivi per HIV-1. È tuttavia ancora da chiarire se il virus abbia un ruolo etiologico rilevante nell'insorgenza di determinate malattie emolinfoproliferative maligne.

Le analogie molecolari genomiche e le somiglianze dei componenti proteici tra HTLV-I e HTLV-II fanno sì che la distinzione sierologica tra i due virus sia alquanto problematica, e quindi per la diagnosi differenziale delle infezioni sostenute da HTLV-II è necessario ricorrere a metodi più sofisticati (saggi radioimmunologici competitivi, amplificazione genica). L'infezione *in vitro* con HTLV-II dà luogo all'immortalizzazione dei linfociti con modalità analoghe a quelle osservate con HTLV-I: la proteina del gene *tax* ($p37^{tax II}$) ha ugualmente proprietà transattivanti.

## HIV

Soggetti infettati con il virus della immunodeficienza umana tipo-1 e più raramente tipo-2 (HIV-1; HIV-2) mostrano un




Digitized by Google

marcato aumento dell'incidenza di linfomi maligni non-Hodgkin (NHL), e attualmente dai Centers for Disease Control degli U.S.A., la presenza di NHL in omosessuali e tossicodipendenti sieropositivi per HIV è stata inclusa, così come in precedenza era avvenuto per il sarcoma di Kaposi, tra i criteri diagnostici della sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS). Nella grande maggioranza tali linfomi originano dalla sottopopolazione linfocitaria B e, dal punto di vista istopatologico, sono classificati come «diffusi a grandi cellule», e cioè rientrano nel gruppo di NHL ad alta malignità. La loro presentazione clinica è piuttosto insolita in quanto frequentemente interessano sedi extralinfonodali, quali la mucosa gastrointestinale, l'encefalo, le grandi sierose e il polmone; la risposta alla terapia è scarsa e la sopravvivenza media molto ridotta (intorno ai 6 mesi).

La etiopatogenesi di questi linfomi è ancora oggetto di studio. L'HIV-1, al contrario dell'HTLV-I, non è in grado di immortalizzare linfociti CD4+ infettati ma anzi esplica uno spiccato effetto citopatico provocandone la distruzione; inoltre i linfociti B interessati dalla trasformazione neoplastica non sono infettati da HIV-1 e nel tessuto linfomatoso non sono dimostrabili sequenze HIV-specifiche. D'altro canto, è abbastanza precoce e costante in corso di infezione da HIV-1 il riscontro nel sangue periferico e nel liquor di un notevole numero di linfociti B che sintetizzano spontaneamente *in vitro* anticorpi specifici per proteine HIV-1. Questo dato, insieme con l'abituale ipergammaglobulinemia osservata in soggetti sieropositivi, depone per una marcata, cronica stimolazione antigenica causata dall'HIV-I, la cui conseguenza evidente è una espansione di cloni linfocitari B HIV-specifici.

Con questa interpretazione concorda l'osservazione che nelle linfoadenopatie associate all'infezione con HIV-I (LAS), e che precedono la comparsa di AIDS conclamata, non è raro trovare nei linfonodi popolazioni linfocitarie B oligoclonali per quanto concerne riarrangiamenti dei geni delle immunoglobuline, segno che una selezione di cloni B antigene-specifici è già in atto in questa fase. Inoltre, nei casi in cui è dimostrabile nel siero la presenza di bande oligoclonali immunoglobuliniche, almeno una parte di queste è specifica per antigeni HIV-I. Infine, risultati preliminari sembrano indicare che in molti dei linfomi B associati all'AIDS la specificità di immunoglobuline sintetizzate dalle cellule neoplastiche è diretta verso determinanti HIV-I.

Altri virus oltre l'HIV-1 sono stati presi in considerazione quali probabili agenti causali dei linfomi in soggetti a rischio per AIDS; in particolare sono stati studiati i virus erpetici EBV e HHV-6. Anche se non è possibile escludere un possibile loro ruolo favorente, non sembra che essi siano prioritariamente coinvolti nella trasformazione neoplastica poiché è possibile svelare sequenze nucleotidiche virali specifiche nel tessuto linfomatoso solo in una parte dei casi di NHL studiati. D'altra parte, l'osservazione che l'oncogéne *c-myc* è frequentemente riarrangiato e ricombinato con la regione S del *locus* IgH sul cromosoma 14 (alterazione tipica dei casi sporadici di linfoma di Burkitt) indica chiaramente che anomalie genetiche sopraggiunte sono verosimilmente determinanti per l'evoluzione neoplastica dei cloni linfocitari B.

Può essere quindi delineato il seguente scenario (cfr. fig. 2): la stimolazione antigenica cronica da parte di HIV-1 e, forse, di EBV e HHV-6 provoca l'attivazione e la proliferazione di cloni linfocitari B; tale espansione clonale viene anche facilitata da linfochine, prodotte dagli stessi linfociti B attivati o da altre cellule infettate da HIV-1, e dalla disregolazione dei linfociti T CD4+. In una seconda fase, caratterizzata da una selezione di cloni linfocitari B, si verifica un cospicuo aumento della popolazione cellulare a

Fig. 2. Possibile patogenesi dei linfomi non-Hodgkin associati con l'AIDS.

rischio per la trasformazione neoplastica. Attraverso ulteriori eventi genetici (aberrazioni cromosomiche, attivazione di oncogéni cellulari, in particolare del *c-myc*) si determinano alterazioni cellulari che comportano la proliferazione autonoma, rapida e aggressiva del clone neoplastico.

**Bibliografia**

Chieco-Bianchi L. *et al.*, *Leukemia*, 1988, **2**, 223S.
Gallo R. C., *Le scienze*, 1987, **222**, 22.
Gallo R. C., Montagnier L., *Le scienze*, 1988, **224**, 19.
Yoshida M., *Bioch. Biophys. Acta*, 1987, **907**, 145.

LUIGI CHIECO-BIANCHI

## BIOLOGIA MOLECOLARE E CITOGENETICA DELLE LEUCEMIE

SOMMARIO



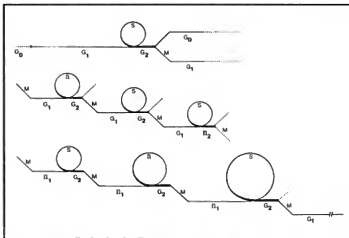
### Biologia molecolare del ciclo cellulare nell'emopoiesi normale

I tessuti emopoietici normali sono caratterizzati da un equilibrio costante tra neoformazione e distruzione di elementi cellulari. È questo equilibrio che permette il mantenimento di dimensioni costanti dei vari compartimenti in cui sono divisibili i tessuti emopoietici ed in particolare il midollo osseo. In essi notoriamente le cellule che sono in grado di riprodursi possono essere distinte sostanzialmente in tre tipi (fig. 3).

1. Cellule che normalmente non si moltiplicano ma possono farlo sotto l'effetto di stimoli di vario tipo. Sono questi «elementi fuori ciclo» nei quali non è individuabile al-




Digitized by Google

Fig. 3. I tre schemi riportati nella figura sintetizzano le tre principali condizioni nelle quali si trovano le cellule mielopoietiche riguardo al ciclo cellulare.
Nello *schema in alto* è indicata la condizione degli elementi in condizioni di quiescenza che possono però rispondere a stimoli eccito-proliferativi entrando in ciclo, cioè passando da una condizione convenzionalmente indicata con $G_0$ alla fase $G_1$ di un primo ciclo cellulare. Si noti particolarmente la lunghezza della fase $G_1$ che è indicata approssimativamente come doppia della corrispondente fase del ciclo nelle cellule che si trovano nella condizione riportata nello schema sottostante. Una condizione di questo tipo è propria delle cellule staminali quiescenti e dei piccoli linfociti del sangue periferico non proliferanti.
Nello *schema centrale* è indicata la condizione di elementi di attività riproduttiva che originano nuove cellule con le stesse caratteristiche dei progenitori. È questa la condizione di una parte della popolazione staminale e della maggior parte delle popolazioni stabilmente proliferanti in coltura.
Nello *schema in basso* è sintetizzata la condizione di elementi che proliferano ma simultaneamente si differenziano e vanno verso la maturazione. È da notare come si abbia un progressivo allungamento sia della fase $G_1$ che della fase S fino a che la fase $G_1$ non è più seguita dalla fase S e la cellula matura. È questa la condizione tipica delle cellule mielo- ed eritropoietiche proliferanti e maturanti nel midollo osseo.

cuna delle manifestazioni del ciclo cellulare ma nei quali può realizzarsi la transizione $G_0/G_1$ in seguito a stimoli eccito-proliferativi. Sono esempi di questo tipo di cellule gli elementi del compartimento staminale quiescente nonché i linfociti circolanti del sangue periferico.

2. Il secondo tipo è rappresentato da elementi che si riproducono, e mantengono dopo la divisione le caratteristiche degli elementi di partenza. È questo il compartimento da cui normalmente provengono gli elementi che andranno a far parte del compartimento successivo.

3. Il terzo tipo è rappresentato da quegli elementi che si dividono dando luogo a cellule con caratteristiche diverse, normalmente più differenziate di quelle da cui derivano, fino a quando la capacità proliferativa viene a perdersi e vengono assunte le caratteristiche fenotipiche dell'elemento differenziato terminale.

È facilmente intuibile che una distinzione rigida fra questi compartimenti non è possibile poiché evidentemente gli elementi di un compartimento passano gradualmente a quelli del compartimento successivo.

Tuttavia è evidente che noi possiamo postulare che la serie di eventi del ciclo cellulare e i meccanismi che li regolano debbano modificarsi sostanzialmente nel corso del processo che porta una cellula quiescente non differenziata, suscettibile o sensibile a stimolazioni di vario tipo, ad un elemento quiescente ma non ulteriormente suscettibile a stimoli proliferativi.

Le basi molecolari di questa variazione rappresentano l'oggetto di intense ricerche e identificano, almeno in buona parte, l'ambito nel quale possono essere individuati oggi gli eventi molecolari coinvolti nella leucemogenesi. Un aspetto molto importante dei fenomeni che caratterizzano il ciclo è dato dalle differenze che esistono tra elementi che realizzano la transizione $G_0/G_1$ ed elementi nei quali tale transizione non è necessaria essendo essi già in ciclo. È ben noto che per la progressione dalla fase $G_0$ alla fase S si richiede un tempo molto più lungo di quello richiesto da una cellula in ciclo per passare dalla mitosi alla fase S. Per es. nelle cellule 3T3 del topo la durata della transizione da $G_0$ a S è di 12 h, mentre l'intervallo dalla fase M alla fase S è di solo 6 h. Numerose osservazioni indicano che i fenomeni che portano direttamente alla sintesi del DNA avvengono durante l'ultima parte della fase $G_1$, all'incirca nelle 6 h che precedono la sintesi del DNA, periodo questo che corrisponde approssimativamente all'intera durata della transizione dalla fase M alla fase S nelle cellule proliferanti.

Uno schema riassuntivo dei processi molecolari che conducono alla sintesi del DNA in un elemento in precedenza quiescente è riportato nella fig. 4. Lo schema illustra le relazioni spazio-temporali tra i principali elementi che, per quanto è oggi conosciuto, sono in grado di controllare l'entrata della cellula in ciclo e quindi la sua attività proliferativa. Va naturalmente tenuto presente, e si è cercato di evidenziarlo nello schema, che le possibili vie metaboliche attivabili dall'interazione tra i fattori di crescita (ligandi) e recettori specifici sono molteplici e ben lungi dall'esaurirsi in quelle indicate dallo schema. Quanti e quali degli eventi molecolari che hanno luogo nella transduzione del segnale siano determinanti per l'inizio della fase S è del tutto sconosciuto. Cominciano però ad aversi informazioni grazie all'impiego di anticorpi monoclonali e oligodeossinucleotidi complementari capaci di inattivare prodotti genici specifici o proteici o messaggeriali. Occorre tenere presente che è di grande interesse il fatto che al di là di un certo punto della fase $G_1$, chiamato punto di restrizione, la cellula non richiede l'intervento di fattori extracellulari e procede in modo essenzialmente automatico verso la sintesi e la duplicazione del DNA e la successiva mitosi. È altrettanto vero che il mancato superamento del punto di restrizione permette alla cellula di procedere a ritroso verso la



Digitized by Google

Fig. 4. Illustrazione schematica di alcune delle vie attraverso le quali sono trasmessi i segnali generati dalla stimolazione originata dai fattori di crescita. Sono riportate solo alcune tra le più importanti vie metaboliche, ad esempio quelle che agiscono con un recettore trans-membrana che è formato da una porzione esterna, da una porzione intramembranosa e una porzione intracitoplasmatica che in molti casi ha attività tirosino-chinasica (Tir K).

Un'altra delle vie illustrate è quella nella quale i recettori dei fattori di crescita agiscono attraverso la degradazione dell'inositolo 4-5 bifosfato (PIP2), ad opera della fosfolipasi c, che dà luogo a inositolo trifosfato (IP3) e diacil-glicerolo (DAG). L'IP3 provoca il rilascio degli ioni $Ca^{++}$ dalle riserve intracellulari e il DAG attiva la protein-chinasi C (PKC).

Una terza via è quella della classica risposta agli ormoni che fa sì che l'attivazione dell'adenilato ciclasi dia origine a cAMP come secondo messaggero e questi interagisca con il recettore attraverso una proteina G capace di legare un nucleotide guaninico. La stimolazione del recettore provoca lo scambio della guanina difosfato (GDP) sulla proteina G con guanina trifosfato (GTP) versione che alla fine dà luogo alla attivazione della adenilato-ciclasi mediata dalla proteina G. Si può dire pertanto che tutta una serie di fenomeni segue la stimolazione della cellula da parte di fattori di crescita. Dapprima si hanno rapidi scambi ionici poi si hanno delle modifiche nella trascrizione di geni e della sintesi proteica ed infine si ha la sintesi del DNA. SRF = fattore di risposta sierica; AP1 = fattore di trascrizione (equivalente al c-Jun).

quiescenza cellulare, una quiescenza ben diversa da quella della cellula differenziata, che è irreversibile.

Gli eventi sinora schematicamente illustrati sono evidentemente caratteristici di un elemento cellulare che passa dalla quiescenza alla proliferazione e che presenta la maggiore necessità di fattori di crescita, come avviene ad es. per i fibroblasti quiescenti stimolati con siero, per i linfociti quiescenti stimolati con mitogeni, o *in vivo* per cellule staminali quiescenti reclutate in ciclo. È chiaro che il semplice mantenimento dell'elemento cellulare in ciclo richiederà una serie di eventi di minore complessità, come suggerisce del resto l'osservazione che la durata della transizione $G_0/S$ è largamente superiore a quella della transizione M/S. È di particolare importanza comunque il fatto che il monitoraggio degli eventi possa essere realizzato al giorno d'oggi abbastanza agevolmente studiando l'espressione di geni coinvolti nel processo. È a questo proposito nella tab. III sono elencati i principali geni di cui è stata dimostrata la inducibilità, cioè la possibilità di attivare l'espressione genica, stimolando elementi cellulari quiescenti alla proliferazione.

Il ciclo cellulare presenta caratteristiche molecolari ancora diverse allorquando la cellula affronta la fase più complessa del processo differenziativo. In questa fase, che nel caso della mielopoiesi si identifica con la transizione mieloblasto/promielocita/mielocita, la durata delle varie fasi del ciclo varia profondamente. Si può infatti osservare che il progredire della differenziazione mieloide è caratterizzato da un progressivo allungamento delle fasi $G_1$ ed S del ciclo cellulare (cfr. fig. 3, schema in basso).

Gli aspetti molecolari di questi fenomeni sono a tutt'oggi scarsamente approfonditi. È tuttavia intuibile come essi debbano implicare, da un lato, l'espressione di quei geni che caratterizzano la fase tardiva di $G_1$ e la transizione $G_1/S$, cioè sostanzialmente i fenomeni che avvengono dopo il punto di restrizione, e, dall'altro, l'espressione di quei geni che sono indispensabili per la differenziazione. Sembra quindi di poter individuare in questi particolari momenti del ciclo la fase più critica dei rapporti fra proliferazione e differenziazione. A questo proposito va notato che sono stati individuati alcuni geni la cui espressione sarebbe condizionante per l'attivazione delle vie metaboliche che accompagnano il differenziamento. È così che si giunge a quel tipo di elemento in cui ad una fase post-mitotica, nella quale l'espressione di geni ciclo-specifici va gradualmente spegnendosi, non fa seguito la fase S, per cui la cellula esce dal ciclo differenziandosi.

In termini di popolazioni molecolari si è visto che la dif-

Digitized by Google

**TAB. III. ELENCO DEI GENI E PROTOONCOGÈNI CICLO-RELATI**

| | |
|---|---|
| *c-myc* | timidilato-sintetasi |
| *c-myb* | HSP-70 |
| *p53* | interleuchina-2 |
| *N-ras* | recettore interleuchina-2 |
| *c-fos* | GM-CSF |
| *c-abl* | recettore transferrina |
| *c-yes* | β-actina |
| *vimentina* | JE3 |
| *calciclina* | KC1 |
| ADP/ATP-translocasi | lattato-deidrogenasi |
| *istone* $H_3$ | enolasi |
| timidina-chinasi | trioso-fosfato-isomerasi |
| diidrofolato-riduttasi | gliceraldeide-3-fosfato-deidrogenasi |
| ornitina-decarbossilasi | CAD |
| calmodulina | γ-interferone |
| ts11 | TGF-β |
| ciclina | *egr* |

ferenziazione è caratterizzata da una cospicua riduzione della complessità di sequenza (cioè il numero totale di diverse sequenze messaggeriali espresse) mentre aumenta l'abbondanza (cioè il numero di copie) di un piccolo numero di geni che sono quelli che assicurano la funzione della cellula terminalmente differenziata (fig. 5). È evidente ehe se si vogliono individuare i geni la cui espressione viene a cessare, essi sono in primo luogo quelli ciclo-relati di cui infatti è stata documentata l'assenza di espressione nelle ultime fasi maturative. Tra i più importanti vanno ricordati c-*myc*, c-*myb*, *tk*, *ts*, *odc* (questi ultimi tre sicuramente legati alla sintesi del DNA), gli istoni e le proteine basiehe complessate con gli istoni stessi. D'altro canto, comincia ad evidenziarsi l'espressione di geni differenziativi mielo-specifici come mieloperossidasi (MPO), lattoferrina (LF) fosfatasi alcalina leucocitaria (FAL), c-*fes* e in genere i geni delle proteine costituenti i granuli primari e secondari del granulocita maturo.

Un cenno a parte merita la sintesi dell'RNA ribosomale nonché delle proteine costituenti il ribosoma. Va segnalato il fatto che i geni dell'RNA ribosomale sono tipicamente inducibili, poiché aumentano cospicuamente la loro espressione prevalentemente durante la fase $G_1$ del ciclo, essendo l'aumento della velocità di trascrizione accompagnato da un aumento della velocità di elaborazione del trascritto e non essendovi accumulo di trascritti primari non elaborati. Diverso è il comportamento dei geni codificanti le proteine ribosomali che sono espressi costitutivamente e la cui trascrizione non subisce variazioni significative in seguito a stimoli mitogenici. Essendoci comunque un aumento significativo di ribosomi maturi se ne conclude che la progressione attraverso il ciclo è caratterizzata da un netto aumento dell'efficienza di utilizzazione degli RNA messaggeri delle proteine ribosomali (Ferrari *et al.*, 1990). Nel corso del differenziamento la sintesi di RNA ribosomale si riduce progressivamente fino ad un livello del 10% dei valori iniziali. Anche l'espressione delle proteine ribosomali si riduce praticamente a livelli non evidenziabili.

**Biologia molecolare del ciclo nel blasto della leucemia acuta**

I fenomeni molecolari che si osservano nel blasto della l. acuta acquistano un significato soltanto se visti alla luce delle conoscenze attuali sul cielo normale. È noto infatti da molto tempo ehe le popolazioni blastiche sono caratterizzate da una bassa attività riproduttiva. Concordano sostan-

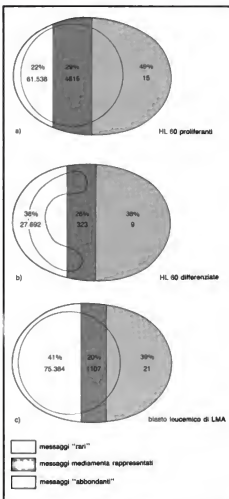



Fig. 5. Rappresentazione schematica della distribuzione delle sequenze poliadenilate in funzione dell'abbondanza e complessità in cellule HL60 prima e dopo induzione al differenziamento terminale e in blasti di l. mieloide acuta (LMA). *a*) Prima dell'induzione alla differenziazione il numero complessivo di sequenze espresse è molto elevato (circa 63.000) ed elevato è pure il numero delle sequenze mediamente abbondanti (circa 5000). Circa il 50% dell'RNA messaggeriale è comunque formato da solo 15 sequenze altamente frequenti. *b*) Dopo induzione alla differenziazione, il numero delle sequenze espresse complessivamente è ridotto di più del 50% e il numero delle sequenze mediamente ripetute è ridotto a poco più del 5%, mentre rappresenta una quota approssimativamente uguale dell'RNA messaggeriale totale. *c*) Nei blasti della LMA (M1), il numero complessivo delle sequenze espresse è ancor più elevato che nei promielociti (circa 72.000) mentre il numero di sequenze mediamente ripetute è assai più basso di quello dei promielociti della linea HL60. Ciò che sembra caratterizzare questi blasti leucemici è il numero molto elevato di sequenze rare.





Digitized by Google

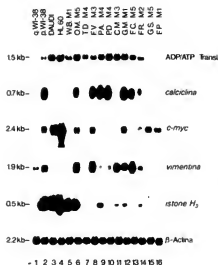



Fig. 6. La figura mostra un insieme di autoradiogrammi (*Northern blot*) che indicano l'espressione di vari geni ciclo-relati in alcune linee cellulari ed in una serie di popolazioni di l. mieloide acuta (LMA). Le linee cellulari sono fibroblasti umani della linea WI-38, sia quiescenti che proliferanti, i linfoblasti di una linea di linfoma di Burkitt (DAUDI), altamente proliferanti, e le cellule mieloidi della linea leucemica HL60. È da notare in particolare come molte popolazioni di blasti leucemici abbiano una notevole quantità di messaggero della *vimentina* e della *calciclina* che sono due tipici geni espressi, in $G_1$ mentre assai scarsa è la quantità dell'RNA messaggero dell'*istone* $H_3$ che è un tipico gene espresso in fase S. L'espressione della β-actina è misurata per essere certi che la quantità di RNA analizzata per ciascun campione sia pressoché identica.

zialmente su questo punto i dati ottenuti con tecniche varie quali le valutazioni dell'indice mitotico e statmo-cinetico, lo studio del contenuto del DNA con citometria a flusso, lo studio dell'indice di marcatura con timidina tritiata. La maggior parte delle indagini condotte con queste tecniche ha portato alla conclusione che nonostante la sua morfologia «blastica» (alto rapporto nucleo/citoplasma, cromatina a reticolo fine, aumento delle dimensioni e del numero dei nucleoli) le popolazioni leucemiche sono sostanzialmente povere o talora poverissime di elementi che sintetizzano il DNA e che quindi passano alla mitosi. I dati ottenuti non hanno permesso comunque di stabilire se queste cellule siano da considerarsi ancora in ciclo o già fuori ciclo, intendendosi con questa espressione sia l'elemento suscettibile di rientrarvi che quello, come la cellula matura, che ha perso definitivamente la capacità di dividersi. È stato indispensabile quindi arrivare allo studio dell'espressione dei geni ciclo-relati per rendersi conto che la maggior parte dei blasti leucemici è da considerarsi sostanzialmente «in ciclo» dato che un'alta percentuale di essi esprime tipici geni associati alla fase $G_1$ del ciclo quali, ad es., *c-myc*, *vimentina*, *calciclina* (fig. 6). Sono invece molto poco espressi alcuni geni tipici della fase S come i geni degli istoni. È pertanto inevitabile concludere che i blasti leucemici non possono essere considerati in $G_0$. D'altro canto la maggior parte di essi non raggiunge, come già si sapeva, la fase S.

Sembra pertanto inevitabile concludere che gli studi di biologia molecolare hanno documentato in modo convincente che il *blasto leucemico è un elemento cellulare caratterizzato dal blocco della progressione attraverso il ciclo fino alla fase S.* Il meccanismo di questo arresto è tuttora sconosciuto. Ci sono tuttavia una serie di dati che suggeriscono l'esistenza di una profonda alterazione della regolazione del ciclo stesso. Ad es. si è visto che, mentre la sintesi delle proteine ribosomali nella cellula normale è strettamente coordinata, nella cellula leucemica si osserva una apparente completa mancanza di coordinamento perché alcune delle proteine sono altamente espresse mentre altre non lo sono quasi. Questa serie di dati si correla bene con l'accumulo di precursori ribosomali che pure è stato documentato nei blasti leucemici.

Altri dati di notevole interesse sono rappresentati dalla

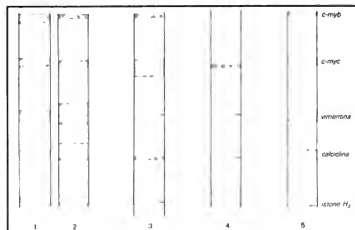



Fig. 7. Rappresentazione schematica dei principali quadri di espressione di geni ciclo-relati che è possibile osservare in cellule proliferanti (1) e in blasti di l. acuta (2, 3, 4, 5).





Digitized by Google

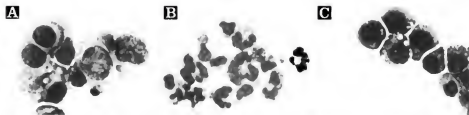



Fig. 8. Quadri morfologici delle cellule mieloidi HL60 prima (*A*) e dopo induzione alla differenziazione con ac. retinoico (*B*) e esteri del forbolo (*C*).

documentazione dell'accumulo di RNA a doppia elica e di precursori messaggeriali poliadenilati. Inoltre la notevole discrepanza rilevabile in diverse popolazioni leucemiche tra l'abbondanza dell'RNA messaggero e la scarsità del corrispondente prodotto proteico è indicativa di notevoli alterazioni della regolazione post-trascrizionale dell'espressione genica.

Questo insieme di dati ha portato alcuni AA. alla conclusione che nelle cellule della l. acuta si realizza una vera e propria «patologia del ciclo cellulare» caratterizzata dal blocco della progressione attraverso il ciclo, che si realizza probabilmente con modalità diverse da popolazione a popolazione, come prova la diversità dei quadri di espressione di geni ciclo-relati osservabile nei diversi casi studiati (fig. 7). D'altro canto va ancora ricordato come numerosi lavori abbiano documentato la possibilità di forzare tale blocco, in una piccola percentuale di cellule blastiche, con l'impiego di associazioni varie di fattori di crescita.

**Biologia molecolare del differenziamento mieloide normale**

La biologia molecolare del differenziamento mieloide è ancora in una fase iniziale di sviluppo rimanendo tuttora oscuri i processi che determinano le variazioni nell'abbondanza dei messaggeri che caratterizzano la differenziazione stessa. Se morfologia, citochimica e immunocitologia hanno permesso di raggiungere una discreta risoluzione dei vari momenti differenziativi, resta però del tutto oscura la regolazione genetica delle varie fasi. I pochi elementi sinora disponibili provengono da due sistemi molto diversi. Il primo è quello che ci viene offerto dalla possibilità di rivelare l'espressione di singoli geni a livello cellulare mediante ibridizzazione *in situ*. Il secondo è quello offerto dalla possibilità di disporre di linee cellulari altamente proliferanti e mantenenti la capacità di differenziarsi in senso mieloide per effetto di induttori di vario tipo quali il DMSO (dimetilsolfossido), l'ac. retinoico, gli esteri del forbolo (TPA) o il diidrocalciferolo (Vit. $D_3$) (fig. 8).

Alcune di queste linee, quali la linea HL60 o la K562, sono quelle umane che hanno permesso di ottenere il maggior numero di informazioni anche se il loro differenziamento è per diversi aspetti non strettamente corrispondente a quello fisiologico. Uno dei grandi vantaggi delle linee cellulari è quello di avere la possibilità di ottenere notevoli quantità di RNA sufficienti a consentire l'analisi dei messaggeri mediante la loro separazione su gel e il

Fig. 9. Induzione alla differenziazione terminale da parte della HL60 mediante diversi agenti inducenti. Da questa analisi di *Northern blot* si vede chiaramente che l'induzione alla differenziazione, qualunque sia l'agente differenziante, porta già dopo poche ore ad un rapido calo e quindi alla scomparsa dell'espressione sia dell'*istone $H_3$* che di *c-myc*, tipici geni espressi in cellule proliferanti. È da ritenere che anche la mieloperossidasi (MPO) cessa la sua espressione tra 8 e 30 ore, il che significa che le cellule hanno raggiunto un livello mielocitico.





Digitized by Google

trasferimento su nitrocellulosa e successiva ibridizzazione con sonde specifiche radioattive (*Northern blot*).

Per sintetizzare gli eventi molecolari che caratterizzano la differenziazione mieloide si può affermare quanto segue. La differenziazione è legata, come si è già accennato, ad una cospicua riduzione del numero di geni espressi. Tra di essi sono stati particolarmente studiati *c-myc*, *c-myb*, *c-fos*, *vimentina*, *calciclina* e altri geni del ciclo (fig. 9). Particolarmente importante appare il fatto che il mantenimento dell'espressione di alcuni geni ciclo-relati sembra inibire la differenziazione, come è il caso di *c-myc*. È stato anche possibile dimostrare che la differenziazione granulocitopoietica e quella monocitopoietica seguono vie diverse. La prima infatti sembra richiedere l'espressione di *c-myb*, come dimostrano gli studi condotti inibendo l'attività di questo gene con oligonucleotidi complementari. Poiché questi oligonucleotidi inibiscono anche la progressione attraverso la fase S del ciclo cellulare se ne conclude che la differenziazione granulocitopoietica è anche dipendente dalla realizzazione di uno o più cicli proliferativi. Diverso è il caso della differenziazione monocitopoietica che è indipendente dall'espressione di *c-myb* e non richiede l'attraversamento della fase S.

Altre acquisizioni molecolari importanti riguardano gli studi differenziativi durante i quali sono espressi alcuni geni essenziali per la funzione granulocitica, come quelli per la mieloperossidasi (MPO) e la lattoferrina (LF). Il primo di questi geni viene espresso in fase mieloblastica, promielocitica e mielocitica mentre più avanti nel differenziamento l'espressione dell'RNA messaggero cessa pur persistendo l'enzima attivo fino alla morte cellulare. Va segnalato che il blocco dell'espressione di questo gene, realizzato con oligonucleotidi complementari, non interrompe la differenziazione della cellula mieloide pur compromettendone la funzione fagocitica. Diverso è il quadro di espressione del gene della LF che viene espresso, a livello messaggeriale, in una fase mielocitica e metamielocitica.

Per quanto riguarda la differenziazione eritroide essa è caratterizzata dall'espressione dei geni delle catene globiniche, che ha inizio molto precocemente quando si induce il differenziamento con DMSO in linee cellulari adatte quali la K562. È da rilevare che l'espressione di questi geni non sembra essere legata al ciclo cellulare dato che essa raggiunge i livelli massimi quando gli elementi sono in fase differenziativa terminale. Per quanto concerne i meccanismi molecolari con cui gli induttori svolgono la loro azione essi sono tutt'oggi sconosciuti come sconosciuto è il meccanismo molecolare dell'effetto eccito-differenziativo dei fattori di crescita. È da ricordare che sono stati individuati fattori proteici nucleari capaci di legarsi al DNA associati, almeno apparentemente, con la differenziazione mieloide e con quella eritroide. Va detto che per ogni singola linea differenziativa mieloide o linfoide è stata individuata la espressione di una o più tirosino-chinasi il cui ruolo nel differenziamento è peraltro sconosciuto. Va ricordato inoltre che l'espressione di alcuni di questi geni, quali ad es. *c-fes*, aumenta con il progredire del processo differenziativo raggiungendo la massima espressione nella fase terminale. È interessante rilevare che l'inibizione della funzione di questo gene blocca completamente la differenziazione granulocitopoietica ma non quella monocitopoietica.

**Biologia molecolare del differenziamento leucemico**

I due aspetti sui quali l'indagine molecolare sul differenziamento del blasto leucemico ha compiuto maggiori progressi sono:

1) un certo chiarimento dei rapporti fra blocco differenziativo e blocco proliferativo;

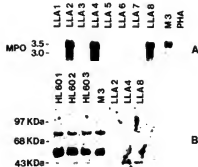



Fig. 10. Dimostrazione dell'espressione del gene della mieloperossidasi (MPO) in blasti di LLA. È da notare come alla presenza del messaggero per la MPO non corrisponda la presenza della proteina enzimatica come documenta nel quadro *B* l'analisi in *Western blot*.

2) la dimostrazione che il fenotipo di una certa linea differenziativa non esclude caratteristiche genotipiche e di espressione proprie di un'altra linea differenziativa.

Per quanto riguarda il primo punto occorre considerare quanto è già stato rilevato in precedenza: in primo luogo che alcune popolazioni leucemiche presentano un più o meno elevato livello di espressione di *c-myc*, osservazione importante per il riconoscimento del fatto che queste cellule debbono essere considerate come elementi in $G_1$. La esistenza di un blocco della progressione in $G_1$ è inoltre dimostrata dal mantenimento dell'espressione di parecchi altri geni $G_1$-specifici. Tuttavia la dimostrazione, sopra ricordata, che la differenziazione granulocitopoietica richiede la progressione della cellula attraverso la fase S del ciclo cellulare, che la grande maggioranza di queste cellule non è in grado di raggiungere, dà una spiegazione dell'origine dell'arresto differenziativo. Quanti e quali siano i geni coinvolti è del tutto da definire, resta però la dimostrazione che il blocco della funzione di *c-myb*, mentre interrompe la progressione attraverso la fase S del ciclo cellulare, blocca anche la differenziazione granulocitopoietica. Quindi almeno una delle possibili vie metaboliche attraverso cui si estrinseca il rapporto proliferazione/differenziamento cellulare è stata chiarita.

Venendo al secondo dei punti da noi sopra ricordati, è stato discusso in altra parte di questa opera il problema della così detta «infedeltà o promiscuità» di linea differenziativa. Il problema è sorto quando si è osservato che popolazioni leucemiche linfoidi possono presentare marcatori fenotipici mieloidi. Dal punto di vista molecolare i dati di maggior rilievo sono quelli che indicano che cellule con fenotipo mieloide possono avere un genotipo con riarrangiamenti caratteristici della linea B- o della linea T-linfoidi. D'altro canto è di notevole interesse il fatto che in l. linfatiche acute con fenotipo e genotipo B è possibile trovare l'espressione di geni mieloidi tipici come quelli della MPO (fig. 10) o della LF.





Digitized by Google

**Citogenetica e genetica molecolare delle sindromi mieloproliferative**

*Citogenetica della mielofibrosi, della policitemia vera e della trombocitemia idiopatica*

A differenza della l. mieloide cronica (LMC) la mielofibrosi non è associata con una anomalia cromosomica specifica, ma quasi l'80% dei pazienti acquisiscono delle aberrazioni cromosomiche non specifiche la cui comparsa spesso prelude alla trasformazione blastica. Parecchie anomalie cromosomiche sono rappresentate in modo ricorrente e tra di esse vanno ricordate quelle che coinvolgono il braccio lungo del cromosoma 1, la monosomia e le delezioni parziali dei cromosomi 5, 7, 9, 11 e 13, la perdita del cromosoma Y, la trisomia dell'8, del 9 e del 21. Tra le alterazioni cromosomiche, quelle più caratteristiche della mielofibrosi sono considerate la 13q− e la t(1; 13). Va ricordato ancora che la dismegacariocitopoiesi è la caratteristica più costante della mielofibrosi sebbene sia presente in tutti i disordini mieloproliferativi cronici. Tra le conseguenze della dismegacariocitopoiesi va ricordato il rilascio nell'ambiente midollare di componenti piastrinici, in particolare il PDGF che è noto essere parzialmente omologo all'oncogène *c-sis*. È stato pertanto sostenuto che l'accresciuto rilascio di PDGF (*Platelet Derived Growth Factor*) da parte dei megacariociti displastici ha conseguenze identiche a quelle che ha l'infezione delle cellule ematopoietiche da parte del virus del sarcoma della scimmia. Si avrebbe cioè un aumento del legame con il recettore del PDGF ed un aumento della fibroneogenesi. Sebbene non ci sia alcuna prova di un'attivazione trascrizionale di *c-sis*, dopo la sua traslocazione dal cromosoma 22 al cromosoma 9 nella LMC, è suggestivo il fatto che la LMC e la mielofibrosi siano condizioni cliniche molto simili. Questo potrebbe essere originato da due diversi meccanismi attivanti indirettamente l'oncogene *c-sis* a formare una quantità eccessiva di PDGF.

Per quanto riguarda la policitemia vera, anomalie cromosomiche non casuali sembrano essere rare almeno nelle fasi iniziali, ma nelle fasi più tardive circa il 50% dei pazienti presenta aberrazioni cromosomiche. Alcune di esse sono le stesse che si trovano nella mielofibrosi e cioè alterazioni e duplicazioni parziali del braccio lungo del cromosoma 1, monosomia o delezione parziale del 5, trisomia dell'8 e del 9. La più frequente anomalia cromosomica è la trisomia 1q che coinvolge segmenti da 1q22 a 1qter. La trisomia 1q non indica comunque una iniziale trasformazione blastica. Altri reperti citogenetici prevalenti sono la delezione parziale del cromosoma 20 (20q−) e anomalie del cromosoma 12.

Per quanto riguarda la trombocitemia essenziale circa l'80% dei pazienti ha un cariotipo normale, mentre i rimanenti hanno delle anomalie cromosomiche variabili. Non ha avuto conferma la prospettata esistenza di una correlazione fra la trombocitemia ed un *marker* cromosomico specifico, il 21q−.

*Citogenetica e genetica molecolare della leucemia mieloide cronica (LMC)*

1. *Il cromosoma Philadelphia*. − Il cromosoma Ph¹ venne descritto nel 1960 da Nowell e Hungerford come un piccolo cromosoma presente nelle cellule di due pazienti con l. mieloide cronica (LMC). Esso è rimasto come una caratteristica citogenetica della LMC anche se si è poi visto che una percentuale abbastanza rilevante di l. linfatiche acute presenta questa anomalia. È stato successivamente dimostrato che il cromosoma Ph¹ origina generalmente da una traslocazione reciproca fra il cromosoma 9 ed il cromosoma 22 t(q34; q11). Un gran numero di ricerche di biologia molecolare hanno poi stabilito che il proto-oncogène *c-abl* è coinvolto in questa traslocazione trasferendosi dal cromosoma 9q32 al cromosoma 22, e contemporaneamente si ha il trasferimento dell'oncogène *c-sis* dal cromosoma 22 al cromosoma 9 (fig. 11).

2. *I geni c-abl e bcr nel cromosoma Ph¹ della LMC*. − Nelle LMC Ph¹-positive l'oncogène *c-abl* è costantemente traslocato sul cromosoma 22. Il punto di rottura, rispetto al gene *c-abl*, varia notevolmente e può trovarsi a più di 101 Kb a monte dell'esone più 5' di *c-abl*. L'orientamento di *c-abl* sul cromosoma Ph¹ è il seguente: centromero- 5'-*c-abl*-3'-telomero, cioè il punto di rottura sul cromosoma 9q si trova a monte di *c-abl*.

La regione del cromosoma 22 che è coinvolta presenta un considerevole interesse in quanto in questa posizione si trova un gene. La maggior parte dei punti di rottura in un notevole numero di pazienti con LMC si trova entro una regione di 5,8 kb. Questa regione è stata indicata con *breakpoint cluster region* (*bcr*). È interessante rilevare che *bcr*, è un gene espresso normalmente dando dei messaggeri

Fig. 11. Oncogèni cellulari coinvolti nella traslocazione reciproca t(9; 22). Rappresentazione schematica della posizione dei proto-oncogèni umani *c-sis* e *c-abl* sui cromosomi n. 22 e n. 9 e degli spostamenti che subiscono in seguito alla traslocazione reciproca t(9, 22) che dà luogo alla formazione del cromosoma Philadelphia.





Digitized by Google

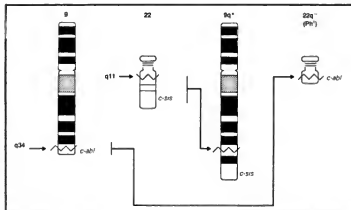
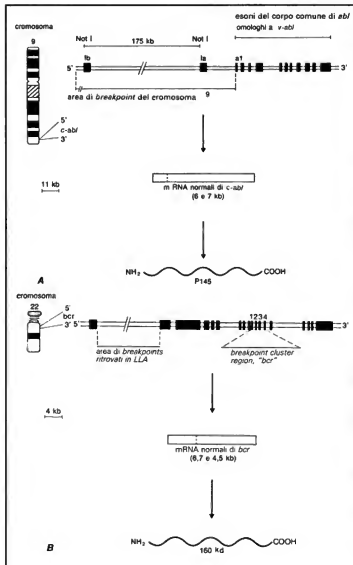



Fig. 12. *A*) Struttura genomica dell'oncogène cellulare normale *c-abl* nell'uomo. Nel cromosoma 9 il proto-oncogène *c-abl* è orientato con l'estremità 5' terminale verso il centromero e con quella 3' terminale verso il telomero. Gli esoni costitutivi del gene sono indicati dai piccoli *riquadri neri*. Quello indicato come a1 è il più 5' degli esoni del cosiddetto corpo comune di *c-abl*, che sono omologhi alle sequenze di *abl* che si trovano nel virus di Abelson. La posizione esatta dell'esone Ib non è ancora del tutto certa e per tale motivo abbiamo indicato i siti d'attacco dell'enzima di restrizione Not I e la lunghezza del segmento tra essi compreso, che contiene la sequenza di Ib. Ciò costituisce sinora la migliore indicazione sperimentale riguardo alla sua localizzazione. Al di sotto di questo segmento è indicata la gigantesca area in cui può localizzarsi il sito di rottura del cromosoma 9. Nei casi studiati sino ad oggi l'esone a1 non è mai stato trovato in posizione 5' rispetto al *breakpoint*, per tale motivo abbiamo indicato la sua estremità 5' come confine 3' della regione di *breakpoint*. Il confine 5' della stessa regione è del tutto impreeisato. È noto un solo caso in cui il sito di rottura si trova 5' rispetto all'esone Ib. Nella parte inferiore della illustrazione *A* è indicata la lunghezza (6 e 7 kb) degli RNA messaggeri normali di *c-abl* e il peso molecolare in chilodalton della proteina da essi codificata (145 kd).

*B*) Struttura genomica del gene *bcr*. Nel cromosoma 22 il gene *bcr* è orientato con la estremità 5' terminale verso il centromero e con quella 3' terminale verso il telomero. Gli esoni costitutivi del gene sono indicati dai piccoli *riquadri neri*. I confini della «regione *bcr*» (*breakpoint cluster region*) sono ben conosciuti. Come area di *breakpoints* ritrovati in casi di LLA Ph1+ abbiamo indicato tutto il primo grande introne senza ulteriori precisazioni che non sono ancora possibili dato il ristrettissimo numero di casi studiati. Nella parte inferiore della illustrazione *B* è indicata la lunghezza (6,7 e 4,5 kb) di quelli che sono ritenuti i trascritti normali di *bcr* e il peso molecolare (160 kd) del loro prodotto proteico.

di 4 e di 6,5 kb (fig. 12). La funzione normale di *bcr* è comunque sconosciuta. In alcuni casi di LMC però il punto di rottura è situato molto più a monte del primo introne del gene. L'orientamento del gene *bcr* sul cromosoma 22 è simile a quello di *c-abl* sul cromosoma 9, cioè centromero-5'-*bcr*-3'-telomero. Ciò significa che dopo la traslocazione la maggior parte dei cromosomi Ph[1] presenta un gene di fusione la cui organizzazione è centromero-5'*bcr-c-abl*-3'-telomero. La struttura genomica del gene *c-abl* e quella del gene *bcr* sono schematizzate nella fig. 12. Dato che l'orientamento della traslocazione dei geni è lo stesso, si osservano nuovi quadri di *splicing* dell'RNA trascritto che danno





Digitized by Google

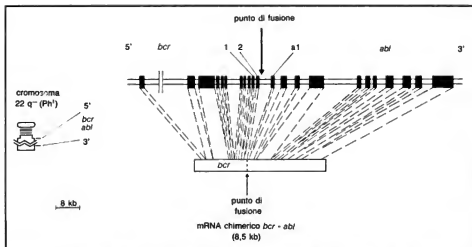



Fig. 13. Unità trascrizionale chimerica *bcr-abl* costituitasi sul cromosoma Philadelphia e mRNA messaggero chimerico *bcr-abl*. Lo schema mostra la struttura genomica del cromosoma Ph¹(22q-) in corrispondenza del sito di rottura. All'estremità 5' terminale è rimasta la porzione prossimale del gene *bcr*, dalla sua estremità 5' terminale fino all'esone n. 2 della *breakpoint cluster region*. All'estremità tronca del cromosoma 22 si è fusa l'estremità del segmento proveniente dal cromosoma 9 e contenente tutti gli esoni del corpo comune di *c-abl*, compreso a1, preceduti da una parte dell'estremità 5' terminale del gene, più o meno lunga a seconda della posizione del sito di rottura del cromosoma 9. Il prodotto di questa unità trascrizionale è un mRNA chimerico formato da esoni di *bcr* nella sua parte 5' terminale e dagli esoni del corpo comune di *abl* nella parte 3' terminale. Il messaggero chimerico comprende, ad entrambe le estremità, parti non codogeniche. Lo schema del mRNA non rispetta la scala di grandezza indicata.

luogo ad un messaggero di fusione di circa 8,5 kb che è una chimera di *bcr* (terminale 5') e di *c-abl* (terminale 3'), che utilizza il promotore di *bcr* ed il segnale di attacco del poli-A di *c-abl* (fig. 13).

Si considera che questo messaggero di fusione sia cruciale per lo sviluppo della l. Benché tale conclusione appaia giustificata va osservato che manca sinora una documentazione definitiva del ruolo patogenetico di questo prodotto genico. Il messaggero chimerico di 8,5 kb dà luogo ad una proteina di fusione di 210 kd. Il problema di quali siano le caratteristiche funzionali indotte nella proteina dalla modificazione dovuta al riarrangiamento genico è stato oggetto di molte indagini. Si ritiene oggi che sia la proteina normale codificata da *c-abl* e che ha un p.m. di 145 kd (p145), sia la p210, siano in grado di fosforilare la tirosina *in vitro*. La principale differenza sembra essere costituita dal fatto che la proteina normale non si ritrova fosforilata *in vivo* mentre la p210 è fosforilata *in vivo* in almeno un sito principale. È comunque importante osservare che sia l'inibizione del messaggero chimerico con un oligonucleotide complementare sia il blocco della p210 con anticorpi monoclonali sembrano inibire la proliferazione mielopoietica. Va ancora ricordato che è stato riprodotto un quadro ematologico molto simile a quello della LMC umana transfettando cellule emopoietiche con un costrutto esprimente la p210.

**Citogenetica e genetica molecolare delle sindromi mielodisplastiche**

L'analisi citogenetica con bandeggio ad alta risoluzione ha mostrato che circa l'80% dei pazienti con sindromi mielodisplastiche primitive hanno difetti cromosomici ricorrenti. Le alterazioni più frequenti coinvolgono il cromosoma 7 (o monosomia o perdita parziale del braccio lungo, 7q−), il cromosoma 8 (trisomia) ed il cromosoma 5 (monosomia e 5q−) e il cromosoma 20 (20q−).

In molti casi di anemia refrattaria con eccesso di blasti le anomalie citogenetiche divengono in genere più complesse e coinvolgono più di un cromosoma. Le alterazioni più frequenti sono rappresentate da riarrangiamenti o delezioni complesse dei cromosomi 7 e 5 nonché da varie delezioni o traslocazioni non casuali che coinvolgono i cromosomi 1, 2, 3, 11, 12, 15, 16, 21 e 22. Particolarmente studiata è stata la condizione che è indicata con il termine di *sindrome del 5q−* e che è caratterizzata da anemia macrocitica, trombocitosi e megacariociti non lobulati. Quando alla singola delezione 5q− si associano difetti cromosomici addizionali, in particolare −7, 7q− e la trisomia 8, l'incidenza della trasformazione in leucosi acuta diviene molto elevata.

È interessante osservare che gli agenti chemioterapici che causano l. acuta secondaria interessano preferenzialmente i cromosomi 5 e 7. I difetti nel cromosoma 7, che consistono in prevalenza nella delezione (−7), hanno luogo in circa il 45% delle l. mieloidi acute secondarie e le alterazioni del cromosoma 5, per lo più 5q−, si sviluppano nel 25% delle l. mieloidi acute secondarie. I difetti combinati dei cromosomi 5 e 7 sono polimorfi e comprendono dei riarrangiamenti complessi così come delezioni cromosomiche parziali.

Vale la pena di ricordare che le anomalie del 5q− nei disordini ematologici implicano delezioni variabili per sede e per grandezza. La maggior parte di queste delezioni appartiene ad uno dei seguenti tipi: delezioni interstiziali che danno luogo a perdite dalle bande q13-15 alle bande q31−32, delezioni terminali distali alle bande q14-15 e de-

Digitized by Google

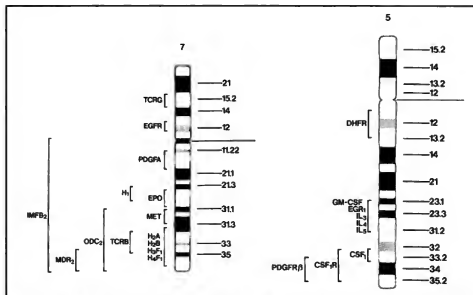



Fig.14. Rappresentazione schematica della localizzazione di diversi geni, coinvolti nella regolazione della proliferazione emopoietica e non, sui cromosomi 7 e 5 di frequente coinvolgimento nelle sindromi mielodisplastiche.

lezioni terminali distali alle bande q22-31. Non è sinora stato possibile chiarire dove traslochino o si inseriscano i segmenti cromosomici mancanti.

È interessante rilevare che gli studi con colture midollari hanno mostrato un normale livello di formazione di colonie granulocito-macrofagiche CFU-GM ma un basso livello di formazione di colonie eritroblastiche (BFU-E, CFU-E) sebbene sia le cellule granulocitopoietiche che quelle eritroblastiche vengano dallo stesso clone e portino la stessa alterazione cromosomica 5q−. È necessario ricordare che sia il cromosoma 5 che il cromosoma 7 sono sede di sequenze che sono espresse nelle cellule midollari proliferanti normali o che codificano proteine coinvolte nella regolazione delle popolazioni ematopoietiche (fig. 14).

Un particolare interesse presentano dal punto di vista molecolare le osservazioni che indicano che le cellule mieloidi nelle sindromi mielodisplastiche sono sede di mutazioni puntiformi dei geni della famiglia *ras* in particolare *N-ras*. Le mutazioni interessano per lo più i codoni 12, 13 e 63. Questa osservazione è di particolare interesse in quanto suggerisce che le mutazioni puntiformi di *ras* potrebbero essere una delle prime alterazioni genomiche nel complesso *iter* che porta alla leucemogenesi e che include, in successione, alterazioni di *ras*, traslocazioni, delezioni di uno o più cromosomi, in analogia ai modelli di progressione tumorale che sono stati costruiti per altre neoplasie, soprattutto per le neoplasie colorettali.

**Citogenetica e genetica molecolare delle leucemie acute non linfoidi**

La tab. IV riporta le principali anomalie cromosomiche riscontrate nelle l. acute non linfoidi. Tali anomalie sono acquisite, clonali, specifiche e non casuali. Esse possono essere divise in tre gruppi.

1) Aberrazioni specifiche, quasi sempre traslocazioni con riarrangiamenti associate con specifici sottotipi di l. acuta non linfoide (LAnL) caratterizzate clinicamente e citologicamente (tab. V). Patognomonico per il sottotipo M2 sem-

**TAB. IV. ALTERAZIONI SPECIFICHE E NON CASUALI NELLE LAnL**

| Tipo di anomalia | Tipo di LAnL |
|---|---|
| t(3; 5)(q21; q31) | LAnL (M2) |
| t(6; 9)(p23; 34) | LMA (M2) |
| t(8; 21)(q22; q22) | LMA (M2) con corpi di Auer |
| t(9; 11)(p21; q23) | LMoA (M5) |
| t(9; 22)(q34; q11) | LAnL Ph¹+ |
| t(11; 21)(q22, q21) | LAnL (M4) |
| t(11; 19)(q23; q12 o p12) | LAnL (M5) |
| t(15; 17)(q22; q12) | LPA (M3) |
| 3p−, 3q− | leucemia secondaria |
| 5q−, −5 | leucemia secondaria |
| 7q−(q33q36), −7 | leucemia secondaria |
| +8 | LAnL |
| 11q−(q23) | M4, M5 (M2) |
| 12p− | leucemia secondaria |
| 12q− | LAnL |
| inv(16)(p13q22) o 16q−(q22) | LAnL con eosinofilia (M4) |
| 21q− | LAnL |
| +22 | LAnL |





Digitized by Google

**TAB. V CLASSIFICAZIONE FAB DELLE LEUCEMIE ACUTE NON LINFOBLASTICHE (LAnL) E ANOMALIE CROMOSOMICHE COMUNI**

| Classificazione | Caratteristiche citologiche | Anomalie cromosomiche comuni |
|---|---|---|
| M1 | leucemia mieloblastica senza maturazione | include LMA con t(9; 22)-Ph[1]-positiva; +8 |
| M2 | leucemia mieloblastica con maturazione | t(8; 21) con corpi di Auer; t(6; 9) con possibile basofilia midollare: interessamento dei cromosomi 3, 5, 7, 12 nelle leucemie secondarie; t(3; 5)(q26; q22) |
| M3 | leucemia promielocitica | t(15; 17) |
| M4 | leucemia mielomonocitica | il cromosoma 11 è spesso interessato; inv(16)(p13q22) o 16q−(q22) |
| M5 | leucemia monocitica | t(9; 11) e 11q−; t(11; 19)(q23; q12 o p12) |
| M6 | eritroleucemia | Ph[1]-positiva; spesso con cellule tutte anomale e con anomalie maggiori; spesso iperdiploidie |

bra essere la traslocazione t(8; 21). Questo sottogruppo di l. mieloidi è legato quasi sempre ad un unico *pattern* cromosomico caratterizzato da una traslocazione bilanciata di parti delle braccia lunghe dei cromosomi 8 e 21. I punti di rottura si trovano alle sottobande 8q22.1 e 21q22.3. Dato che l'oncogène *c-mos* è stato localizzato sulla banda 8q22 si presume che la traslocazione t(8; 21) (q22.1; q22.3) alteri ed in qualche modo attivi *c-mos*.

Tutti i pazienti con la traslocazione t(8; 21) hanno la variante M2 della l. mieloide acuta (LMA). Il riarrangiamento t(8-21) è l'anomalia cromosomica più frequente nei bambini con LMA.

Un'altra alterazione cromosomica relativamente specifica è stata identificata in alcuni pazienti con LMA M2 e più precisamente la traslocazione t(6; 9). I punti di rottura coinvolti sarebbero t(6; 9) (p21p23; q33q34).

La variante M3 della LMA, la l. acuta promielocitica (LPA) è caratterizzata costantemente dalla traslocazione t(15; 17). I punti di rottura coinvolti nella t(15; 17) non sono stati ancora definiti con precisione a causa della peculiare morfologia dei due cromosomi coinvolti, ma comunque sembrano essere situati sulla banda 15q22 e in una regione del 17q indicata come q12q21. Il difetto cromosomico nella t(15; 17) sembrerebbe coinvolgere l'oncogène *c-fes*, ma anche il solo bandeggio fine sembra indicare che il rapporto di *c-fes* con la t(15; 17) è praticamente solo casuale. In questa forma, che è caratterizzata da una iperespressione del gene della mieloperossidasi, non è comunque stato individuato alcun riarrangiamento del gene stesso che è situato sulla banda q22q23 del cromosoma 17.

Un'altra particolare segnalazione deve essere fatta per l'interessamento del cromosoma 11 e più in particolare 11q23 nella variante M5, la l. acuta monocitica. Le forme con andamento più aggressivo presentano in genere una traslocazione t(9; 11) (q22; q23). Altre forme di l. acuta monocitica coinvolgono comunque sempre la banda 11q23 come si può vedere ad es. nelle forme con t(6; 11) (q27; q23), t(9; 11) (p22; q23), t(10; 11) (p25; q23), t(11; 17) (q23; q25), t(11; 19) (q23; q13). Tutte queste osservazioni sembrano suggerire che la banda 11q23 porti un gene per la differenziazione monocitica anche se questa resta una ipotesi.

2) Alterazioni non casuali come la trisomia 8, la monosomia o delezione del cromosoma 7, la monosomia o delezione del cromosoma 5. Queste alterazioni compaiono come anomalie singole o associate variamente ad altre, a volte in cosiddette anomalie «cariotipiche complesse». Queste ultime sono più frequenti in l. secondarie ad altre neoplasie.

3) Circa il 30% dei casi anomali presenta una miscellanea di alterazioni cariotipiche. Questo gruppo di pazienti è ancora molto eterogeneo non solo dal punto di vista citogenetico, ma anche relativamente alla classificazione FAB (French-American-British), alla risposta terapeutica e alla sopravvivenza. Per quanto riguarda la definizione molecolare di queste situazioni, si può dire che essa è soltanto agli inizi. Pertanto non esiste una forma di l. acuta non linfoide nella quale l'anomalia citogenetica sia stata approfondita così come è avvenuto per la LMC. Non è possibile pertanto fare riferimento ad alcuno degli oncogèni noti come elemento coinvolto in modo specifico. È necessario comunque ricordare che mutazioni puntiformi in un piccolo numero di codoni (posizioni 12, 13 e 61) nell'oncogène *N-ras* sono presenti in una percentuale di LMA che varia dal 20 al 30%. Inoltre casi specifici e sporadici di mutazioni puntiformi a carico di *K-ras* e *H-ras* sono state anche individuate in l. acute non linfoidi. Il fatto già ricordato che mutazioni puntiformi di *N-ras* siano state trovate in una percentuale significativa di sindromi mielodisplastiche induce a pensare, come si è già detto, che l'attivazione dell'oncogène *ras* può essere uno stadio precoce della trasformazione neoplastica. Va ricordato ancora che in qualche singolo caso di l. acuta non linfoide è stata osservata l'amplificazione genica di *c-myc* o *c-myb*, ma la rarità di tali osservazioni non permette di trarre alcuna conclusione sul loro significato.

**Genetica molecolare delle sindromi linfoproliferative**

*Leucemie linfoblastiche acute (LLA)*

1. *Leucemie linfoblastiche acute B*. – La tab. VI riporta le principali alterazioni specifiche e non casuali osservate nella l. linfoblastica acuta (LLA). Va ancora una volta sottoli-

**TAB. VI. ALTERAZIONI SPECIFICHE E NON CASUALI NELLE LEUCEMIE LINFOBLASTICHE ACUTE (LLA)**

| Tipo di anomalia | Tipo di LLA |
|---|---|
| t(1; 19)(q21; q13) | LLA (L1) |
| t(1; 19)(q23; p13.3) | LLA a cellule pre-B |
| t(2; 8)(p11-13; q24) | LLA (L3) |
| t(4; 11)(q21; q23) | LLA o mielomonocitica |
| t(8; 14)(q24; q32) | LLA (L3) |
| t(8; 22)(q24; q11) | LLA (L3) |
| t(9; 22)(q34; q11) | LLA – Ph[1] + (L1 e L2) |
| t(11; 14)(q13; q32) | LLA |
| 6q− | LLA |
| 9p− | LLA a cellule T |
| 12p−(p12) | LLA |
| t4+(q32) | LLA a cellule T dell'adulto |
| +21 | LLA |





Digitized by Google

neato che le alterazioni specifiche riportate nella tab. VI non si presentano nella totalità dei casi ma quando sono riscontrate caratterizzano una certa forma; ad es. la traslocazione t(4; 11) caratterizza un tipo di LLA con differenziazione linfoide e monocitoide dovuta probabilmente ad un disordine della cellula staminale totipotente. D'altro canto la traslocazione t(1; 19) caratterizza un tipo di LLA a cellule pre-B a prognosi assai peggiore dei casi di LLA privi dell'alterazione suddetta. Per quanto riguarda le l. linfatiche acute B, la maggior parte dei dati molecolari riguarda i processi genomici relativi al riarrangiamento dei geni immunoglobulinici nella differenziazione linfoide B. Una esposizione anche molto sintetica dei complessi riarrangiamenti molecolari che hanno luogo nella differenziazione delle cellule B non è possibile in questa sede per cui si rinvia alla trattazione della biologia molecolare della differenziazione B-linfocitaria. Lo stesso dicasi per i fenomeni molecolari che hanno luogo nella differenziazione T-linfocitaria per quanto riguarda le catene del recettore per le cellule T.

Per quanto concerne alcuni riarrangiamenti e traslocazioni presenti in numerose neoplasie B-linfocitarie essi verranno esaminati a proposito del linfoma di Burkitt (v. BURKITT, LINFOMA DI*) e di altri linfomi non Hodgkin (v. LINFOMI*). Basti qui ricordare che lo studio dei riarrangiamenti genici dei geni delle immunoglobuline trova una indiscussa utilità per la diagnosi di clonalità ed anche per la diagnosi di linea differenziativa, anche se per quest'ultima, come è già stato ricordato, riarrangiamenti dei geni delle Ig o del recettore per la cellula T sono stati osservati sporadicamente in l. della serie mieloide. Nella esperienza del nostro gruppo lo studio dei geni delle catene leggere k fornisce il parametro più specifico per fare diagnosi di linea: il gene non era riarrangiato nella nostra esperienza in nessuna neoplasia che non appartenesse alla linea B-linfocitaria. Tuttavia il riarrangiamento dei geni delle catene leggere delle immunoglobuline non è criterio necessario per attribuire una popolazione neoplastica alla linea B. Nei casi di l. a cellule pre-B il gene era riarrangiato solo nel 43% dei casi.

2. *LLA-B e c-abl*. – Dal 10 al 20% dei pazienti con l. linfatica acuta B (LLA-B) ha un cromosoma Ph[1] che è citogeneticamente simile a quello della LMC. Inoltre una certa parte di pazienti con LMC sviluppa una trasformazione blastica che è ematologicamente simile alla LLA. L'indagine molecolare ha mostrato che in questi casi si ha un complesso riarrangiamento di *c-abl/bcr* nel quale il punto di rottura sul cromosoma 22 è assai più prossimale ed è situato spesso tra il primo ed il secondo esone del gene *bcr* (fig. 15). Anche in questo caso l'orientamento è conservato per cui si forma un messaggero di fusione che dà luogo ad una proteina chimerica di 180-190 kd. I rapporti funzionali fra i due diversi prodotti chimerici non sono a tutt'oggi chiariti.

3. *LLA-T*. – Una notevole percentuale di l. linfatica acuta a cellule T (LLA-T) presenta anomalie del cromosoma 14, anomalie che coinvolgono principalmente le bande q11 e q32 che corrispondono ai *loci* del gene per la catena α del recettore per le cellule T e al gene delle catene pesanti delle Ig. Ci sono almeno 3 anomalie cromosomiche associate con il *locus* del *TCR alfa* che devono essere tenute presenti, due di queste coinvolgono il braccio corto del cromosoma 11 e l'altra coinvolge il braccio lungo del cromosoma 10. Due di queste traslocazioni e più precisamente la t(11; 14) (p15; q11) e la t(11; 14) (p13; q11) sono state clonate. In una linea cellulare che porta questa traslocazione, il punto di rottura sul cromosoma 14q11 è stato trovato unito al segmento J delta 1 associato col gene C delta. Questo *locus* probabilmente rappresenta la parte terminale del *locus* J alfa, dato che il *locus* C delta umano si trova 85 kb a monte di C alfa. Il segmento 11p15 (il punto di rottura si trova su 11p15 distalmente a 11p15.1) che lega il gene del *TCR alfa* è stato visto contenere un gene che viene trascritto nelle cellule che portano questa traslocazione. Questo gene pertanto è un valido candidato ad essere considerato come un esempio di oncogène, l'espressione del quale viene alterata come risultato di una anormalità cromosomica. Pertanto questo gene potrebbe essere coinvolto nella patogenesi della l. a cellule T.

La traslocazione t(11; 14) (p13; q11) è una alterazione piuttosto frequente in associazione con la LLA-T. Analogamente alla t(11; 14) (p15; q11) la traslocazione 11p13 avviene al *locus* del *TCR delta* a 14q11. Studi molecolari hanno mostrato che i punti di rottura cromosomici coinvolgono unioni con configurazioni di J delta e D delta riarran-

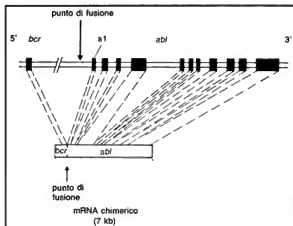



Fig. 15. Unità trascrizionale chimerica variante descritta sinora in casi di LLA Ph[1]-positive. Lo schema illustra la particolare unità trascrizionale chimerica descritta in rari casi di LLA. Essa è caratterizzata dalla perdita di tutti gli esoni di *bcr* ad eccezione del primo all'estremità 5' terminale, perdita dovuta al fatto che il sito di rottura del cromosoma 22 cade in questi casi nel primo grande introne del gene *bcr*, determinando il trasferimento di tutti gli esoni di *bcr*, tranne il primo, al cromosoma 9. La parte proveniente dal cromosoma 9, contenente gli esoni comuni di *c-abl*, non sembra subire variazioni. Il messaggero chimerico che ne risulta, schematizzato senza rispettare l'indicata scala di grandezza, non è distinguibile per lunghezza (circa 7 kb) dai normali trascritti di *bcr* e *abl*.

giate e non. L'altra traslocazione descritta nella LLA-T e cioè la t(10; 14) (q24; q11) è stata trovata avere dei punti di rottura al sito 14q11 con il *locus TCR alfa*.

4. *Leucemia acuta a cellule T dell'adulto*. – Come è noto questo tipo di l. è una neoplasia a cellule T mature caratterizzata dalla presenza del retrovirus HTLV-I. L'esistenza di un piccolo gruppo di pazienti con LLA-T ma con dimostrata assenza dell'HTLV-1 suggerisce che altri fattori possano essere coinvolti nella patogenesi della LLA-T. Pertanto questa condizione presenta diversi parallelismi con il linfoma di Burkitt dove si trovano sia forme EBV (*Epstein Barr Virus*) -positive sia forme EBV-negative. Gli ipotetici fattori secondari coinvolti nella genesi della LLA-T sono del tutto sconosciuti. Una indicazione che importanti modificazioni genomiche possono essere coinvolte può essere vista nell'osservazione recente di una delezione nel DNA di una linea cellulare derivata da un paziente con LLA-T. Questa delezione è stata trovata sulla banda q24 del cromosoma 8 entro la cosiddetta regione *pvt like*. Tale regione è stata caratterizzata nel topo come sede frequente di punti di rottura. Nell'uomo tale regione è implicata nella patogenesi di forme varianti del linfoma di Burkitt. La delezione di questa regione potrebbe essere un importante attivatore di *c-myc* nell'LLA-T sebbene il coinvolgimento dell'HTLV-1 in questa delezione sembri improbabile.

Comunque i ruoli dell'HTLV-1 nella LLA-T e dell'EBV nel linfoma di Burkitt (LB) hanno evidenti parallelismi. Entrambi i virus infettano precursori delle cellule neoplastiche e così facendo creano dei cloni cellulari «stabilizzati». Successivamente questi cloni possono acquisire riarrangiamenti secondari nel DNA (per es. la traslocazione di *c-myc* nel Burkitt) che portano il clone alla malignità. Se questo sia sufficiente ad originare il fenotipo neoplastico è ovviamente discutibile, sebbene studi sulla conversione di linee B cellulari EBV-positive non tumorigeniche in linee tumorigeniche mediante transfezione di geni *c-myc* attivati sembra indicare che questo potrebbe essere sufficiente.

*Leucemia linfatica cronica (LLC)*

Nella LLC-B, così come in altri tipi di condizioni linfoproliferative B quali la l. prolinfocitica o il mieloma, l'anormalità cromosomica più frequente è la traslocazione fra il cromosoma 14 con punto di rottura al sito q32 ed il cromosoma 11 con punto di rottura a q13 come risulta dalla tab. VII. Lo studio molecolare ha mostrato che il riarrangiamento della catena H delle IgG ha luogo sul cromosoma 14 in modo che l'allele escluso porti la traslocazione. Lo studio della regione del cromosoma 14 coinvolta nel punto di rottura ha mostrato che esso ha luogo nel sito IgG J4. Dato che la traslocazione è molto spesso la sola anormalità cromosomica vista in neoplasie B, sembra probabile che essa contribuisca effettivamente alla trasformazione neoplastica. La regione interessata del cromosoma 11 viene per lo più indicata come il gene *bcl 1*, sebbene finora non sia stata individuata nessuna regione trascritta e debba essere sostanzialmente indicata come una serie di punti di rottura.

Val la pena di ricordare che sono state ottenute delle sonde a DNA dal cromosoma 11 nella regione del punto di rottura. Ciò pertanto consente di individuare i riarrangiamenti in 11q13 nelle cellule B senza ricorrere all'analisi citogenetica. Va inoltre osservato che la LLC e il linfoma diffuso a cellule B, sebbene spesso citogeneticamente identici, hanno punti di rottura cromosomici che non sono esattamente gli stessi a livello molecolare. Pertanto sembrerebbe che per rilevare tutte le neoplasie a cellule B che hanno punti di rottura in 11q13 sia necessario uno spettro di sonde piuttosto vario.

Nella LLC-T e nella LPC-T (l. prolinfocitica cronica) le

**TAB. VII. ALTERAZIONI SPECIFICHE E NON CASUALI NELLA LLC**

| | |
|---|---|
| **B** | t(11; 14)(q13; q32) |
| | t(14; 19)(q32; q13) |
| | t(2; 14)(q13; q32) |
| | t(14q) |
| | +12 |
| **T** | t(8; 14)(q24; q11) |
| | inv(14)(q11; q32) |
| | inv(14)(q11; q32) |

anomalie cromosomiche prevalenti sembrano essere l'inversione 14(q11; q32) e la analoga traslocazione t(14; 14) (q11; q32). Studi di clonaggio molecolare hanno dimostrato che i pazienti con l. croniche T che portano questi cromosomi abnormi hanno i punti di rottura nel sito 14q11 entro il *locus TCR alfa* e precisamente alla giunzione con i segmenti J alfa. Il segmento riarrangiato al 14q32 è sul lato centromerico del *locus* dell'Ig H. Questo sembra implicare che il *locus* q32.1 è sede di un gene che nella nuova posizione, dopo che l'alterazione cromosomica è avvenuta, si comporta come un oncogène e contribuisce alla patogenesi della malattia (v. anche sotto, col. 4599).

Ricorderemo da ultimo, a proposito di rotture cromosomiche nei linfociti T, che la stimolazione con fitoemoagglutinina in coltura di linfociti normali permette di mettere in evidenza cellule che portano l'inversione del 14 e la traslocazione t(7; 14). Queste anomalie sporadiche probabilmente non hanno alcun rapporto con quelle associate alle neoplasie e possono rappresentare il risultato di altri eventi che hanno luogo durante la divisione delle cellule T in coltura.

In breve sembrano esserci due distinti punti di rottura al 14q32. Uno, il punto di rottura sporadico, probabilmente ha sede entro il *locus* genico Ig VH al sito 14q32.3, l'altro punto di rottura apparentemente non ha niente a che fare con il *locus* Ig H ma rompe la sequenza a valle di questo *locus* nella regione 14q32.1. Quest'ultimo sembra essere coinvolto nella patogenesi della neoplasia forse perché un oncogène è localizzato in questa posizione.

*Linfoma di Burkitt (LB)*

1. *Caratteristiche citogenetiche*. – Il linfoma di Burkitt è un linfoma a cellule B che si presenta in due forme principali: una forma endemica (africana), che è in genere associata alla presenza del virus di Epstein-Barr (EBV), e una forma sporadica, che è di solito EBV-negativa. La caratteristica più importante del LB di tutti i tipi è la presenza di una di tre specifiche traslocazioni cromosomiche che coinvolgono tutte il cromosoma 8 e più precisamente la banda q24. La maggioranza dei LB presenta la t(8; 14) (p24; q32) mentre una piccola quota presenta o la t(2; 8) (p12; q24) o la t(8; 22) (p24; q11) (fig. 16). La caratteristica comune di queste neoplasie è il punto di rottura del cromosoma 8 in q24 che è il *locus* del proto-oncogène *c-myc* (fig. 17). Studi cariotipici e ibridizzazioni *in situ* e molecolari hanno definito i punti di rottura sul cromosoma 8 e sugli altri cromosomi coinvolti nel LB. Studi molecolari hanno mostrato che i *loci* delle immunoglobuline sono coinvolti in ognuna delle tre traslocazioni. Nei casi con t(8; 14) sono coinvolti i geni delle catene pesanti (H), nei casi, con t(2; 8) sono coinvolti i geni delle catene leggere k e nei casi con t(8; 22) sono coinvolti i geni delle catene leggere λ.

Queste ultime due forme di LB sono indicate con il termine di *forme varianti* dato che rappresentano solo una piccola parte dei casi. La differenza più importante che





Digitized by Google

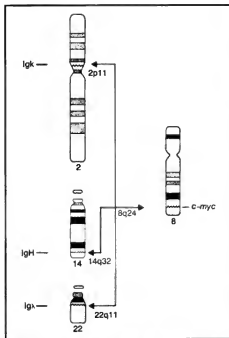



Fig. 16. In tutti i casi di linfoma di Burkitt fino ad oggi studiati è presente una traslocazione che interessa da un lato il *locus* di *c-myc* (sul cromosoma 8, banda q24) e dall'altro uno dei *loci* sui quali sono stati mappati i geni delle immunoglobuline. (*Da Leder et al.*, *1983, modificata*).

esiste tra le forme t(8;14) e le forme varianti è data dalla differenza dei punti di rottura sul cromosoma 8 rispetto al gene *c-myc* (fig. 18).

Il gene *c-myc* ha tre esoni, due dei quali codificano la proteina di *c-myc* ed uno che è detto non codificante. Esiste però su quest'ultimo punto una notevole divergenza di opinioni dato che nelle cellule umane sembra dimostrabile una proteina che è codificata appunto dal primo esone. Nella traslocazione t(8; 14) i punti di rottura si trovano o entro il *c-myc* stesso o a monte del gene, mentre le forme varianti presentano i punti di rottura a valle del gene *c-myc*. Questo porta a fenomeni di traslocazione notevolmente diversi.

Tutte e tre le traslocazioni in genere hanno luogo in prossimità dei geni della regione costante delle IgG (C). Quando la rottura avviene vicino alla regione C essa taglia sostanzialmente il *locus* delle IgG (fig. 19). Nella t(8; 14) (q24; q32) la traslocazione muove l'estremità del cromosoma 8q, includendo il gene *c-myc* all'estremità del cromosoma 14q in modo da giustapporre il gene delle IgG con il 2° e il 3° esone di *c-myc*, con orientamento 5'-5' *c-myc*. Contemporaneamente il *locus* Ig VH è portato sul cromosoma 8q legandolo al residuo del *locus* di *c-myc*.

Le traslocazioni varianti sono diverse. In queste i geni della regione costante delle Ig sono trasportati con il pezzo di cromosoma 2p o 22q sulla regione al 3' di *c-myc*. Le conseguenze molecolari di questi diversi riarrangiamenti sono completamente differenti.

2. *Punti di rottura nei geni delle catene pesanti*. – Nel linfoma di Burkitt con t(8; 14) i punti di rottura entro il gene delle catene pesanti delle Ig sono divisibili approssimativamente in due aree. Nella prima, la regione J è il sito predominante della rottura nel linfoma di Burkitt endemico; presumibilmente la traslocazione ha luogo durante il normale processo di congiunzione V-J. In un secondo gruppo, nel linfoma di Burkitt sporadico, i punti di rottura si trovano frequentemente nella regione S (*switch*) situata vicino alle regioni C della catena H. È interessante ricordare che il linfoma di Burkitt endemico è associato con l'EBV che infetta le cellule B e le immortalizza. In queste cellule ha presumibilmente luogo la congiunzione V-D-J-H così che la probabilità di avere una traslocazione associata a J-H è aumentata. Il linfoma di Burkitt sporadico EBV-negativo probabilmente ha luogo in cellule più mature nelle quali si compie lo *switch* di classe delle Ig e pertanto è possibile il riarrangiamento di un gene di fusione V-D-J con un diverso segmento delle catene pesanti.

3. *Punti di rottura nei geni delle catene leggere k e λ*. – Nei punti di rottura delle forme varianti i geni delle catene leggere sembrano essere il sito della traslocazione (k al cromosoma 2p12 e λ al cromosoma 22q11). Questo può coinvolgere le regioni J, almeno per le catene k, e qualche volta i segmenti Vk. È importante osservare che queste traslocazioni varianti portano i segmenti Ck o Cλ dietro il gene di *c-myc* che rimane nel *locus* 8q32 dopo la traslocazione.

4. *Punti di rottura vicini a c-myc nella t(8; 14)*. – Il protooncogène *c-myc*, come si è detto, ha tre esoni di cui il secondo ed il terzo sono quelli comunemente accettati come codificanti la proteina. La traslocazione t(8; 14) nel linfoma di Burkitt fa sì che il gene *c-myc* sia trasportato sul cromosoma 14q+ con il frammento del cromosoma 8 traslocato. La maggior parte delle forme di linfoma di Burkitt endemico non mostra riarrangiamenti del DNA usando sonde di *c-myc* con la tecnica di *Southern blot* (v. BLOTTING*). Nelle forme con traslocazione t(8; 14) ci sono due tipi di punti di rottura correlati a *c-myc*. Un primo tipo si presenta a distanza considerevole a monte del primo

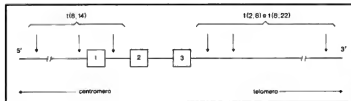



Fig. 17. Localizzazione dei *breakpoints* sul cromosoma 8 nella traslocazione t(8, 14) e nelle traslocazioni varianti del linfoma di Burkitt. In evidenza i tre esoni di *c-myc*.

Fig. 18. Nelle traslocazioni varianti *c-myc* non è troncato e si trova in un orientamento testa-coda con Cκ o Cλ.

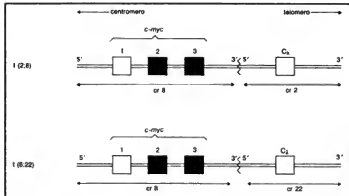
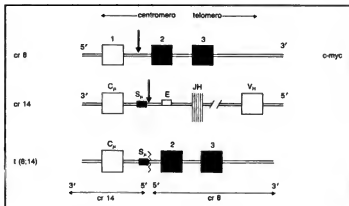



Fig. 19. Traslocazione (8; 14) in un caso di linfoma di Burkitt, forma sporadica. I *breakpoints* sul cromosoma 8 e sul cromosoma 14 sono indicati dalla *freccia*. Nella parte inferiore la posizione reciproca in cui vengono a trovarsi Cμ e gli esoni 2-3 di *myc*. Si noti che *c-myc* è stato troncato fra il primo e il secondo esone e che Cμ ha perso l'*enhancer*. Inoltre, i due geni si trovano orientati in posizione opposta rispetto alla trascrizione.

esone di c-*myc*. Un secondo tipo di punto di rottura, che si trova in forme non endemiche, è quello nel quale i punti si trovano vicino o entro *c-myc*. Questi punti di rottura comprendono quelli che sono dentro il primo esone o dentro il primo introne e quelli che sono entro la regione immediatamente 5' del primo esone.

5. *Alterazioni strutturali del gene* c-*myc*. – Una mutazione facilmente rilevabile è la rottura del primo esone di c-*myc* per la traslocazione. La maggior parte dei linfomi di Burkitt endemici, tuttavia, non mostra alcun segno di riarrangiamento dentro od in prossimità del gene. Va sottolineato, tuttavia, che le mutazioni nel gene c-*myc* traslocato sono frequenti particolarmente nel primo esone. Sono state osservate mutazioni sia negli esoni codificanti che nel primo esone non codificante. È stata sottolineata l'alta frequenza di mutazioni in un certo sito dell'esone 1, per es. quello definito da un sito di restrizione con Pvu II. Il significato di queste mutazioni è però tuttora motivo di molte controversie.

6. *Possibili meccanismi di attivazione del proto-oncogène c-myc*. – Sin dai primi studi di genetica molecolare del linfoma di Burkitt è stato postulato che il proto-oncogène c-*myc* si attivi in conseguenza della sua vicinanza ad uno dei *loci* immunoglobulinici dopo la sua traslocazione. Prove a sostegno di questa tesi sono venute sia da studi di trasfezione sia da esperimenti con i topi transgenici. È noto che possono stabilirsi linee linfoblastoidi in coltura infettando colture di cellule B con il virus EBV. Queste linee non sono tumorigeniche nei cosiddetti topi nudi (topi immunologicamente inerti), ma è stato dimostrato che possono essere convertite ad un fenotipo tumorigenico mediante transfezione con vari tipi di plasmidi contenenti il gene c-*myc* controllato da promotori molto attivi. Sembra pertanto che l'infezione da EBV e l'attivazione di c-*myc* siano sufficienti per la conversione tumorigenica di cellule B.

Altre importanti osservazioni hanno dimostrato che l'inserimento di varie forme del gene c-*myc* nelle cellule germinali del topo porta all'origine di linfomi. Al momento attuale è peraltro difficile formulare una ipotesi unificante che spieghi le conseguenze della traslocazione del gene c-*myc*. È giustificato pensare che abbia luogo una deregolazione trascrizionale ma la sua natura rimane incerta. Data





Digitized by Google

l'alta frequenza di mutazioni somatiche nel gene *c-myc* traslocato, sembra inevitabile attribuire a queste mutazioni puntiformi, così come delezioni e piccole duplicazioni, una importanza determinante nella patogenesi del linfoma di Burkitt. La perdita dell'esone 1, perché troncato nella traslocazione o perché mutato, potrebbe causare la perdita della sintesi della maggiore delle due proteine di *c-myc* e questo potrebbe contribuire all'attivazione oncogenica. Un differente, ma non esclusivo, meccanismo per l'attivazione potrebbe essere legato all'osservazione che le mutazioni nell'esone 1 sono legate ad un alterato controllo della trascrizione dovuto alla rimozione di un blocco dell'allungamento trascrizionale. In conclusione, benché una caratteristica costante del *c-myc* traslocato nel linfoma di Burkitt sia la presenza di mutazioni nell'esone 1 è inevitabile ammettere che restano ancora molti punti oscuri nella spiegazione dell'attivazione oncogenica di *c-myc*.

*Linfomi follicolari*

1. *Caratteristiche citogenetiche.* – L'analisi citogenetica ha mostrato che la traslocazione fra il cromosoma 14q32 ed il cromosoma 18q21 è un fenomeno che si presenta nei linfomi follicolari con frequenza superiore all'80%. La traslocazione coinvolge i geni delle catene pesanti delle immunoglobuline nonché delle sequenze del cromosoma 18 al punto di rottura indicato come gene *bcl 2* (fig. 20). Usando queste sequenze come sonde è stato possibile caratterizzare il gene normale *bcl 2* sul cromosoma 18. Il secondo esone ha una regione non tradotta molto lunga ed è entro questa regione che si trova la maggior parte dei punti di rottura. La rottura del gene *bcl 2* nelle cellule entro la traslocazione porta a differenti dimensioni dei trascritti e forse causa differenze nel *processing* di questi.

2. *Analisi molecolare delle traslocazioni del gene bcl 2.* – Il punto di rottura in 14q32 corrisponde al *locus* delle catene pesanti delle Ig (fig. 21). I punti di rottura clonati si trovano entro il *cluster* J-H in genere al terminale 5' dei segmenti J-H. È stato identificato vicino alla giunzione sul cromosoma 18 della traslocazione t(14; 18) un gene, il *bcl 2* appunto, che sembra essere coinvolto nella patogenesi dei linfomi follicolari. L'analisi dettagliata del gene *bcl 2* ha mostrato un gene con tre esoni. Si ha un primo lungo esone

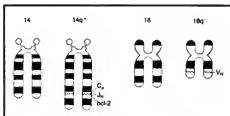



Fig. 20. Traslocazione (14; 18) (q32; q21.3). (*Da Tsujimoto et al., 1984, modificata*).

5' non traslato, un piccolo esone di 220 nucleotidi fra l'esone primo e secondo e un largo introne fra gli esoni secondo e terzo. Gli elementi promotori del *bcl 2* contengono multipli potenziali siti di legame per il fattore di attivazione trascrizionale Sp1. Sono state osservate nel *bcl 2* traslocato delle mutazioni somatiche analoghe a quelle del *c-myc* traslocato.

Due regioni di punti di rottura sono state descritte per il *bcl 2*; la maggior parte di queste si trova nella regione 3' non codificante del terzo esone. Una seconda regione di punti di rottura si trova al terminale 5' di *bcl 2*. Il meccanismo preciso della traslocazione cromosomica rimane controverso. Ad ogni modo le varie giunzioni della t(14; 18), che finora sono state studiate, non sembrano alterare in alcun modo la regione codificante di *bcl 2* e le sole alterazioni osservate sono delle mutazioni puntiformi. L'ipotesi più accettata al momento attuale è quella che suggerisce che si abbia una deregolazione della trascrizione. Il messaggero di *bcl 2* ha una vita molto breve e la sua espressione è regolata trascrizionalmente sia nelle cellule B che nelle cellule T in risposta ai mitogeni. Le cellule con la traslocazione presentano un livello di messaggero superiore a quello delle cellule normali. Ancora una volta la natura precisa della deregolazione trascrizionale resta incerta.

L'analisi della struttura genica ha identificato due possi-

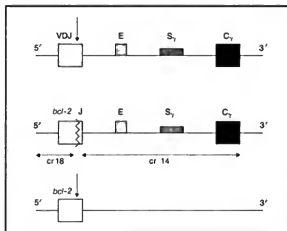



Fig. 21. Effetti strutturali della traslocazione (14; 18) nella linea SUDHL-4. Fusione di *bcl-2*, troncato in posizione 3', con sequenze immunoglobuliniche (il cromosoma 14 è quello allelicamente escluso, e in questo caso è andato soggetto precedentemente a *switch* isotipico).





Digitized by Google

bili chiavi di lettura che dovrebbero dare due proteine: una di 239 aminoacidi, indicata con alfa, e una di 205 aminoacidi indicata con beta. Queste ipotetiche catene alfa e beta derivano da chiavi di lettura sovrapposte che sono identiche eccetto che per il carbossiterminale. Sono stati ottenuti anticorpi contro il prodotto proteico di *bcl 2* realizzato in un vettore di espressione, e il frazionamento subcellulare ha indicato che la proteina è associata con la membrana cellulare ma non è stato trovato un segmento transmembrana. Ovviamente questi studi sono preliminari e ulteriore lavoro è necessario per determinare la funzione della proteina *bcl 2* ed il suo ruolo nella oncogenesi.

**Bibliografia**


Baserga R., *The biology of cell reproduction*, 1985, Harvard University Press, Cambridge, Massachussetts/London, England.
Croce C. M. *et al*., *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 1987, **84**, 7174.
Daley G. Q., Van Etten R., Baltimore D., *Science*, 1987, **247**, 824.
Ferrari S., Ceccherelli G., Tagliafico E. *et al.*, *Leukemia*, 1990, **4**, 688.
Ferrari S., Donelli A., Manfredini R. *et al.*, *Cell Growth and Differentiation*, 1990, **1**, 543.
Ferrari S., Manfredini R., Tagliafico E. *et al.*, *Cancer Research*, 1990, **50**, 5825.
Ferrari S., Mariano M. T., Tagliafico E. *et al.*, *Blood*, 1988, **72**, 873.
Ferrari S., Tagliafico E., Temperani P. *et al.*, *Leukemia Res.*, 1990, **14**, 735.
Sandberg A. A., *The chromosomes in human cancer and leukemia*, 1990, Elsevier, Amsterdam.
Selleri L., von Lindern M., Hermans A. *et al.*, *Blood*, 1990, **75**, 1146.
Torelli U., Emilia G., Torelli O., Ferrari S., Narni F., *Biologia molecolare delle leucemie e dei linfomi*, 1989, USES, Firenze.


UMBERTO TORELLI E SERGIO FERRARI

## QUADRI CLINICI DELLE LEUCEMIE (VIII, 1526)

SOMMARIO



### LEUCEMIE ACUTE

#### Varianti citologiche

Le leucemie acute (LA) sono un gruppo eterogeneo di emopatie dovute alla trasformazione neoplastica maligna di cellule staminali emopoietiche aventi gradi diversi di potenzialità differenziativa in senso linfoide (l. linfoblastiche acute, LLA) o mieloide (granuloblastica, monocitica, eritroide, megacarioblastica) (l. acute non linfoblastiche, LAnL, o l. mieloidi acute, LMA): sono caratterizzate dalla espansione clonale di vari sottotipi di cellule anaplastiche, incapaci di evolvere compiutamente fino agli stadi morfologicamente e funzionalmente maturi. Le LA di tipo plasmocitico (LA plasmacellulare) o mastocitico (LA mastcellulare) presentano problemi a sé stanti (v. PLASMOCITOMA; PLASMOCITOMA*; MASTOCITOSI).

Alla *identificazione dei sottotipi citologici* delle LA concorrono rilievi morfologici (in microscopia ottica, in ultramicroscopia e in microscopia elettronica), citochimici (qualitativi e quantitativi), biochimici, immunocitologici, citogenetici, nonché reperti d'ordine biomolecolare. L'identificazione dei sottotipi citologici ha rilevanza ai fini prognostici e terapeutici.

Molteplici sono i parametri che devono essere valutati nell'ambito di ciascuno dei predetti ordini di rilievi.

1. *Criteri morfologici.* – Comprendono: dimensioni cellulari; forma del nucleo; configurazione della rete cromatinica; presenza, numero e grandezza dei nucleoli; ampiezza, grado di basofilia e di vacuolizzazione del citoplasma; presenza e natura di granuli citoplasmatici (compresi i cosiddetti corpi di Auer o altre strutture simil-cristalline); grado di eterogeneità cellulare; orientamento evolutivo verso una o più linee di differenziazione (se si tratta di LA mieloidi); grado di maturazione strutturale delle cellule leucemiche. I rilievi morfologici (completati da quelli citochimici, v. sotto) nella maggior parte dei casi sono sufficienti per assegnare un determinato processo leucemico alla linea mieloide o alla linfoide ed anche all'uno o all'altro dei sottotipi mieloidi, non invece per identificare con sicurezza i sottotipi linfoidi e per chiarire la natura delle cosiddette «leucemie a cellule indifferenziate» (v. sotto). La *classificazione citomorfologica delle LA secondo i criteri FAB* (*French, American, British*: v. sotto) è riportata nella tab. VIII e dettagli morfologici utili per identificare i sottotipi LLA sono riportati nella tab. IX.

2. *Criteri citochimici.* – È importante valutare non solo la positività o negatività delle reazioni ma anche la morfologia e la topografia nella cellula delle reazioni positive. I principali reperti citochimici qualitativi e semiquantitativi figurano nella tab. X.

L'appartenenza alla *linea linfoide* è attestata dalla forte positività dei test per la β-glicuronidasi e per le fosfatasi acide (positività focale paranucleare in più del 50% dei blasti nel 90% dei casi di LLA-T). Granuli PAS-positivi sono presenti nel 40% delle LLA, talora con formazioni grossolane a disposizione paranucleare o perinucleare. Questo reperto non può tuttavia essere considerato patognomonico delle LLA poiché granuli PAS-positivi possono essere reperiti anche in talune LMA e in particolare nei monociti (granuli fini e diffusi nel citoplasma). Dal punto di vista citochimico la diagnosi di LLA è pertanto spesso una diagnosi per esclusione (assenza di caratteristiche morfologiche e citochimiche proprie delle LMA). La TdT (deossinucleotidil-transferasi terminale) può essere dimostrata anche con tecniche di immunofluorescenza indiretta o con immunoperossidasi ed è riconoscibile nelle cellule linfoidi in stadio evolutivo precoce (la reazione è positiva nel 90-97% dei casi di LLA). Il reperto è importante ma non strettamente linea-specifico, in quanto anche il 10% delle LMA ha più del 10% di blasti TdT-positivi. È da rilevare però che solo nel 3% dei casi di LMA le cellule positive superano il 50%.

L'appartenenza alla *linea granuloblastica* è comprovata dalla positività dei test per la mieloperossidasi (MPO). Altri test citochimici appaiono meno sensibili e/o meno specifici per le LMA: il test per la cloroacetato-esterasi (CAE), un enzima espresso selettivamente nella linea neutrofila, nelle LMA dà spesso positività deboli o incerte e in singoli casi di LLA si osservano spuri reperti positivi puntiformi: anche la colorazione con il Sudan nero B (lipidi) non è





Digitized by Google

**TAB. VIII. CLASSIFICAZIONE CITOLOGICA DELLE LEUCEMIE ACUTE**

| Linea differenziativa | | Subtipo morfologico | |
|---|---|---|---|
| **Frequenza (%)** | **Classificazione FAB** | **Frequenza (%)** | **Caratteri morfologici fondamentali** |
| Linfoide (~ 30) | L1 | 87 | LA linfoide (cfr. tab. IX) |
| | L2 | 9 | |
| | L3 | 2 | |
| | (LP) | (3% di tutti i plasmocitomi) | LA plasmacellulare *de novo* |
| | Non precisabile | 1,5 | |
| Mieloide (~ 70) | M1 | ~ 20 | LA mieloblastica senza segni di maturazione |
| | M2 | 30 | LA mieloblastica con segni di maturazione |
| | M3 | 10 | LA promielocitica ipergranulare |
| | M3m | | LA promielocitica ipogranulare |
| | M4 | 25 | LA mielomonocitica (LAMMo) (monociti > 20 < 80%) |
| | M4 Eo | | LA mielomonocitica con eosinofilia (Eo > 5%) |
| | M5a | 4 | LA monocitica (LAMo) poco differenziata (LA monoblastica) (monoblasti ≥ 80% delle cellule monocitiche) |
| | M5b | 6 | LA monocitica (LAMo) differenziata (monoblasti < 80% delle cellule monocitiche) |
| | M6 | 5 | Eritroleucemia acuta (AEL) (eritroblasti > 50%, blasti M1/M2 < 30% delle cellule non eritroidi) |
| | M7 | 1 | LA megacarioblastica (AMegL) |
| | (UAL) | < 5 | LA a cellule indifferenziate |
| Mastcellulare | (LAMz) | rara | LA mastcellulare |

**TAB. IX. DIAGNOSI DIFFERENZIALE CITOMORFOLOGICA DELLE LLA (SECONDO I CRITERI FAB)**

| Parametri citologici | L1 | L2 | L3 |
|---|---|---|---|
| Dimensioni cellulari | Prevalenza di cellule piccole | Anisocitosi, prevalenza di cellule grandi | Cellule grandi uniformi |
| Cromatina nucleare | Omogenea | Aspetto variabile | Fine e omogenea |
| Forma del nucleo | Rotondo, talora indentato | Irregolare, spesso indentato o ripiegato | Rotondo o ovale |
| Nucleoli | Assenti o piccoli | Uno o più nucleoli, spesso voluminosi | Uno o più grandi nucleoli vescicolosi |
| Ampiezza del citoplasma | Scarsa | Spesso abbondante | Discretamente abbondante |
| Basofilia citoplasmatica | Debole o moderata, raramente intensa | Variabile | Molto intensa |
| Vacuolizzazione del citoplasma | Variabile | Variabile | Spiccata |

da tutti ritenuta specifica della linea mieloide in quanto sia pure in rari casi una bassa percentuale di cellule sudanofile è stata dimostrata in LLA (si prescinde ovviamente dal reperto di lipidi mascherati, presenti in varie strutture cellulari di tutte le cellule emiche).

L'appartenenza alla *linea monocitica* è riconoscibile dalla spiccata positività delle reazioni per le esterasi non specifiche (NSE) α-naftilacetato-esterasi (ANAE) (che in M4 e M5 è NaF sensibile) e α-naftilbutirrato-esterasi (ANBE); le reazioni per le fosfatasi acide danno nei monociti granuli finissimi diffusi; con le reazioni per la MPO e con il Sudan nero B ed il PAS si osservano colorazioni deboli, diffuse o finemente granulari; raramente la CAE dà reazione positiva nei monoblasti.

L'appartenenza alla *linea eritroide* nei casi molto anaplastici è provata solo dalla dimostrazione della glicoforina A mediante AcMo specifici (v. sotto), ma nella maggior parte dei casi la morfologia delle cellule è sufficiente per un orientamento diagnostico, tanto più se corredato da alcuni reperti citochimici (PAS-positività granulare o a grossi blocchi negli stadi maturativi eritroidi più precoci, colorazione citoplasmatica diffusa negli stadi semimaturi o maturi; granuli Perls-positivi perinucleari; talora spiccata attività a topografia focale della fosfatasi acida e delle NSE).

L'appartenenza alla *linea megacarioblastica* è sicuramente provata solo dalla positività alla reazione per la perossidasi piastrinica (visualizzabile in microscopia elettronica) e con anticorpi monoclonali (AcMo, come ad es. il CDw41), diretti contro le glicoproteine piastriniche Ib (legano il fattore von Willebrand) e IIb (recettori per il fibrinogeno). È caratteristica anche una PAS-positività a grossi granuli. Le reazioni per le fosfatasi acide, le NSE, la 5-nucleotidasi possono talora essere notevolmente intense, mentre il Sudan nero B e la MPO sono sempre negativi. Queste osservazioni valgono soprattutto per la LA a megacarioblasti, mentre la «promegacariocitica» può essere diagnosticata spesso già in base alla morfologia delle cellule. I piccoli blasti presentano talora una corona di piastrine adese alla superficie citoplasmatica.

3. *Criteri biochimici.* – La presenza di TdT e quella di esosaminidasi (isoenzima I), di adenosina deaminasi (ADA) e di 5-nucleotidasi sono caratteristiche della linea linfocitaria. Per la monocitica può essere utile la valutazione del lisozima.

4. *Criteri citoimmunologici.* – Presenza o assenza di *markers* cellulari, quali Ig di superficie (sIg), recettori per eritrociti di montone (E) o di topo (Em), vari antigeni di membrana superficiale riconoscibili con AcMo possono costituire validi sussidi per assegnare alla linea linfoide o alla mieloide casi ambigui di l. e soprattutto per differenziare nell'ambito delle LLA la linea linfocitaria T dalla non-T e le tappe evolutive di entrambe. I criteri citoimmunologici hanno invece minore significato pratico nella diagnostica dei sottotipi mieloidi, benché anche tra questi sia comprovata una



Digitized by Google

**TAB. X. REPERTI CITOCHIMICI NEI BLASTI DEI SOTTOTIPI LMA E LLA**

| | M1 | M2 | M3 | M4 | M5 | M6 | M7 | L1 | L2 | L3 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Mieloperossidasi (MPO) | + | 2+ | 3+ | 2+/±[1] | +/– | – | – | – | – | – |
| Sudan nero B | + | 2+ | 3+ | 2+/±[1] | +/– | – | – | – | – | – |
| Naftol-AS-D-cloroacetato esterasi (CAE) | +/– | + | 3+ | 2+[2]/–[1] | +/– | – | – | – | – | – |
| Ac. periodico-Schiff (PAS) | ± | ± | ± | + | + | 2+ | 2+[3] | +[3] | +[3]/– | –[5] |
| TdT | –[5] | –[5] | – | – | – | – | – | + | + | –[5] |
| Fosfatasi acide | – | – | – | ±[1] diffusa | + | –[5] | + | +[4] focale | +[4] focale | – |
| α-naftil-butirrato-esterasi (ANBE) | ± | ± | ± | +/2+[1] | + | –[5] | –[5] | +[4] | +[4] | – |
| α-naftil-acetato-esterasi (ANAE) +NaF | – | ± resistente | + resistente | 2+[1] sensibile | 3+[1] sensibile | – | – | +[4] | +[4] | – |
| β-glicuronidasi | – | – | – | – | – | | | +[4] | +[4] | – |
| *Oil Red O* | – | – | – | – | – | – | – | –[5] | –[5] | + |
| Glicoforina A | – | – | – | – | – | + | – | – | – | – |
| Perossidasi piastrinica ultrastrutturale (UPPO) | – | – | – | – | – | – | + | – | – | – |

[1] Nei monociti. [2] Nei granuloblasti. [3] Prevalentemente positività in blocchi grossolani. [4] L'intensa positività delle reazioni per gli enzimi lisosomali, specie se in forma granulare e in sede paranucleare (area «focale» di Golgi), è propria della LLA-T. Nelle LLA *null* la positività è debole e di tipo puntiforme diffuso. Nelle LLA-B le reazioni sono negative (tranne singole eccezioni). [5] Occasionalmente positiva (per lo più debolmente).

eterogeneità immunofenotipica. Non mancano esempi di coespressione nella stessa cellula di antigeni di superficie mieloidi e linfoidi (*leucemie bifenotipiche*) come pure di presenza nello stesso paziente di due o più distinte popolazioni leucemiche (*leucemie bilineari*) (Stass, 1987). I principali reperti citoimmunologici delle LMA sono riferiti nella tab. XI e quelli delle LLA nella tab. XII.

Non è stato finora identificato un *marker* cellulare specifico dello stato leucemico e nessuno o ben pochi antigeni di superficie definiti da AcMo possono essere considerati strettamente specifici di una linea evolutiva. In linea generale non sono stati identificati fenotipi specifici per ciascuna classe FAB benché talune associazioni si rinvengano con particolare frequenza in singole classi (Second MIC Cooperative Study Group, 1988). Pertanto i reperti ottenibili in ambito citoimmunologico non possono costituire una variabile indipendente ai fini diagnostici. Altrettanto discusso, anche nell'ambito delle LLA, è il peso prognostico dell'immunofenotipo, se considerato come variabile indipendente. È da rilevare ancora che i criteri morfocitochimici e citoimmunologici non portano a conclusioni sempre e necessariamente sovrapponibili, tranne casi particolari (ad es. la LLA-L3).

5. *Criteri citogenetici.* – In più del 60% di tutte le LA e nell'80-90% dei casi di LAnL esistono alterazioni quantitative e/o qualitative dei cromosomi, presenti talora già all'esordio della malattia (*alterazioni primarie*) o più spesso emergenti successivamente nel corso della malattia (*alterazioni secondarie*): queste ultime non di rado si addizionano alle primarie. Le *alterazioni quantitative* del cariotipo riguardano il numero modale dei cromosomi (ipo- o iperploidie) mentre quelle *qualitative* concernono numerosi processi (traslocazioni, delezioni, inserzioni, inversioni), spesso complessi, che portano talora alla formazione di cromosomi a struttura profondamente anomala (cromosomi ad anello, dicentrici, con prematura condensazione, etc.). Alterazioni quantitative e qualitative spesso coesistono. Le più frequenti alterazioni primarie del cariotipo riscontrabili nei diversi sottotipi di LAnl e LLA sono riportate nelle tabb. XIII e XIV.

È probabile che tra le LLA con cariotipo apparentemente normale (circa il 30% dei casi) esistano non di rado alterazioni cromosomiche a livello molecolare. Per quanto attiene al reperto di t(9;22) con formazione in LA del cromosoma Ph[1], v. il successivo paragrafo 6.

Un interessante tentativo di classificazione delle LA, basato anche sui reperti citogenetici e citoimmunologici oltre che su quelli morfo-citochimici, è dovuto al *MIC Cooperative Group* (1986-88): la *Morphologic, Immunologic, and Cytogenetic (MIC) Classifica-*

**TAB. XI. FENOTIPI CELLULARI DELLE LEUCEMIE MIELOIDI ACUTE (LMA)**
(*Second MIC Cooperative Group*, 1988, modificata)

| *Markers* | M1 | M2 | M3 | M4 | M5 | M6 | M7 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| HLA-DR | + | + | – | + | + | +/– | +/– |
| CD34 (My10) | + | +/– | – | +/– | +/– | +/– | +/– |
| CD33 (My9) | + | + | + | + | + | +/– | +/– |
| CD13 (My7) | +/– | + | + | + | + | + | |
| CD11 (OKM1, Anti-Mo1) | – | + | +/– | + | + | + | |
| CD15 (My1) | – | + | +/– | + | + | + | |
| CD14 (My4, Anti-Mo2) | – | +/– | – | + | + | – | |
| Glicoforina A (VIE-64) | – | – | – | – | – | + | – |
| Glicoproteine piastriniche (GP) IIb/IIIa/ Ib/IIIa (J15, AN51, C17, CDw41) | – | – | – | – | – | – | + |





Digitized by Google

**TAB. XII. SOTTOCLASSIFICAZIONE DELLE LEUCEMIE LINFOBLASTICHE ACUTE (LLA)**

| | Non-T-LLA | | | | T-LLA | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | cALLA$^-$ μ$^-$ (pre-pre-B-LLA) | cALLA$^+$ cμ$^-$ (pre-B-LLA) | cALLA$^+$ cμ$^+$ (pre-B-LLA) | B-LLA | pre-T-LLA | T-LLA |
| | (LLA *null*) | (LLA *common*) | | | | |
| *Morfologia* (FAB) | L1, L2 | L1, L2 | | L1, L3 | L1, L2 | |
| (frequenza %) | (91,9) | (86,14) | | (36,64) | (92,95) | |
| *Markers cellulari* | | | | | | |
| sIg | – | – | – | + | – | – |
| cIg (μ) | – | – | + | – | – | – |
| E (rosette) | – | – | – | – | +/– | + |
| CD7 (Leu9) | – | – | – | – | + | + |
| CD10 (cALLA, BA3) | – | + | + | +/– | +/– | – |
| Ia | + | + | + | + | – | – |
| CD5 (Leu1) | – | – | – | – | + | + |
| CD20 (B1) | – | + | + | + | – | – |
| CD19 (B4) | +/– | + | + | + | – | – |
| CD1a (T6) | – | – | – | – | + | + |
| CD2 (T11/Leu5) | – | – | – | – | + | + |
| CD3 (T3/Leu4) | – | – | – | – | + | + |
| TdT | + | + | +/– | – | + | + |
| Esosaminidasi I | +/– | + | +/– | – | – | – |
| Adenosina deaminasi | – | – | | | | + |
| 5-Nucleotidasi | + | + | | | | – |
| Fosfatasi acida | – | – | – | – | +/– | + |
| Frequenza (%) totale | 9,5 | ~ 75 | | 1,5 | 15 | |
| bambini | 9 | > 70 | | | 11 | |
| adulti | 10 | ~ 50 | | | 26 | |

**TAB. XIII. PRINCIPALI ALTERAZIONI PRIMARIE DEL CARIOTIPO NELLE LAnL**

| FAB | Alterazioni cromosomiche |
|---|---|
| M1 | 7q–/–7, –17, +21 |
| M2 | t(8; 21) (q22.1; q22.3), t(3; 5) (q26; q22) |
| M3 | t(15; 17) (q22; q11.2) |
| M1, M2 | inv(3) (q21q25-27), t(9; 22) (q34.1; q11.2) (Ph$^1$), t(6; 9) (p21-22; q22.3) |
| M1, M2, M4, M5, M6 | –5 o 5q–(q13q31), +8 |
| M2, M4 | +4 |
| M2, M4, M5a | t(9; 11) (q34.1; q11.2) |
| M2, M4, M5b | inv(16) (p13.1; q22.1) o 16q–(q22) |
| M6 | –7, +21,2q– |

*tion of the Acute Leukemias* rappresenta quindi un passo avanti rispetto alla classificazione FAB e attende solo più vaste conferme casistiche perché ne siano meglio chiarite le implicazioni prognostiche (v. sotto).

6. *Reperti d'ordine biomolecolare*. – È accertato che nelle LA esistono correlazioni tra particolari punti di rottura dei cromosomi e alterazioni (rotture, traslocazioni) di alcuni *proto-oncogéni*. Seguendo l'elencazione di Emilia (1989), nella t(8; 21)(q22; q22), rinvenibile nella M2 con corpi di Auer, il *c-ets* 2 localizzato sul cromosoma 21 è traslocato sul n. 8(8q–) mentre il *c-mos* del n. 8 non viene traslocato; nella t(15; 17)(q22; q12), non infrequente nella LMA promielocitica (M3), il *c-fes* originariamente presente sul n. 15 è probabilmente traslocato su 17q– mentre il *c-erb-A* del

**TAB. XIV. PRINCIPALI ALTERAZIONI PRIMARIE DEL CARIOTIPO NELLE LLA**

| FAB[1] | Fenotipo | Alterazioni cromosomiche |
|---|---|---|
| L1, L2 | *null* | t(4; 11) (q21; q23), t(9; 22) (q34.1; q11.2) (Ph$^1$)[2] |
| L1 | *common* | 9p– |
| L2 | *common* | del(6) (q21q15), +21 |
| L1, (L2) | *common* | t(11; 14) (q13; q32) |
| (L1), L2 | *common* | 12p–(p12) |
| L1, (L2) | pre-B | t(1; 19) (q21-q23; p13.3) |
| L3 | B | t(8; 14) (q24.1; q32.3), t(8; 22) (q24; q11), t(2; 8) (p11-13; q24) |
| L1, L2 | T | 14q+(q32) o 14q–(q11) |
| (L1), L2 | T | t(11; 14) (p13-14; q11.2-13) |

[1] Tra parentesi il citotipo che presenta frequenza minore.
[2] Il cromosoma Ph$^1$ può comparire anche nel fenotipo *common*, raramente in quello T.





Digitized by Google

n. 17 non è traslocato; nella t(9; 11)(p11-22; q23), propria della LMA monocitica (M5), il *e-ets-1* localizzato sul n. 11 è traslocato sul 9p− e il gene per l'IFN-β è traslocato sull'11q+ derivativo; nell'inv(16)(p13; q22), che sembra essere propria di LA.:. con eosinofilia, il gene per la *metallotioneina* viene rotto mentre il *c-mos* e il *c-myc* rimangono intatti; nella t(6; 9)(p23; q34) reperibile in casi di LAnL (M2), il *c-abl* presente sul cromosoma 9 non viene traslocato. Nella t(11; 14)(p13; q11), occorrente in LLA-T, il gene codificante per TCR (presente sul cromosoma 14) appare troncato, forse in corrispondenza dell'ancora ipotetico oncogène *tcl-2*, e la regione costante del $TRC_\alpha$ ($C_\alpha$) è traslocata sul cromosoma 11p+. Nella t(8; 14)(q24; q11) rinvenuta in LLA-T, gran parte del braccio lungo del cromosoma 14 viene trasferita sul n. 8 (8q+) ed una piccola parte distale di 8q si porta sul n. 14(14q−). Ne consegue la giustapposizione sul n. 8 di *c-myc* con sequenze del $TCR_\alpha$ (regione costante $C_\alpha$ e parte della regione J) che potrebbe attivare l'espressione dell'oncogène.

Non è chiara tuttavia la conseguenza biologica delle traslocazioni dei proto-oncogèni ora citate.

Un commento particolare richiede la t(9; 22)(q34; q11), che porta alla formazione del cromosoma $Ph^1$ (v. sotto: *leucemia mieloide cronica*), proprio della maggior parte dei casi di LMC ma talora reperibile anche in LAnL di sottotipo M1-M2(0,3-2%) e più frequentemente in LLA di sottotipo L1 e L2, con fenotipo *null* o *common* (circa il 5-16% tra le LLA dell'infanzia e il 19-25% tra le LLA dell'adulto). Non è mai interessato il sottotipo L3.

Recenti studi indicano che le LLA $Ph^1$+ sono eterogenee sotto il profilo biomolecolare. In taluni casi i processi di rottura e le traslocazioni di materiale genico tra i cromosomi 9 e 22 sono identici a quelli classici per la LMC ed analoghi sono il mRNA traslato e la proteina codificata (p210), che ha attività tirosinochinasica: si tratta per lo più di LLA $Ph^1$+ che rappresentano trasformazioni blastiche (TB) linfoidi (terminali o d'esordio) di LMC. In altri casi, invece, e particolarmente nelle forme *de novo*, la rottura del cromosoma 22 — anziché essere situata entro i ristretti limiti della *regione bcr* — ha luogo in un punto del primo grande introne del gene *bcr*, il che significa che tutti gli esoni del gene *bcr* in posizione 3' rispetto al sito di rottura vengono traslocati sul cromosoma 9q− e non entrano a far parte della unità trascrizionale chimerica che si costituisce sul cromosoma 22 per fusione del residuo di *bcr* e di *c-abl* traslocato dal cromosoma 9. Ne deriva un mRNA di 7 kb e pertanto più piccolo del trascritto chimerico proprio della LMC (8 kb) e piuttosto simile ad uno dei normali trascritti di *c-abl* (v. sotto: *leucemia mieloide cronica*). La proteina chimerica codificata da tale mRNA anomalo ha un peso molecolare di 185-190 kd(p190) ed è dotata di attività tirosinochinasica.

In tempi recenti contributi di notevole importanza per la conoscenza della biologia cellulare delle LA nell'uomo ed anche per la risoluzione di alcuni problemi di citodiagnosi sono stati apportati dall'*analisi della struttura dei geni codificanti per le immunoglobuline di membrana* (nei linfociti B) e *per il recettore antigenico TCR* (nei linfociti T), cioè dei recettori di superficie che consentono ai linfociti il riconoscimento dell'antigene.

I geni delle Ig sono distribuiti in 3 distinti *loci* su cromosomi diversi: 2(p11.2) (catene leggere k), 22(q11) (catene leggere λ) e 14(q34) (catene pesanti). I geni codificanti per le componenti β e γ del TCR sono invece mappati sul cromosoma 7 (rispettivamente in q35-36 e in p17) e quelli per le componenti α e δ entrambi sul cromosoma 14(q11) (fig. 22).

Nei linfociti B i geni delle Ig vengono attivati (subendo un riarrangiamento somatico) nei primi stadi del differenziamento linfocitario (pre-B) in una ordinata sequenza, che comporta dapprima la produzione di catene intracitoplasmatiche μ e poi coespressione μ + δ, indi la sintesi di catene leggere (in cui la k precede la λ), sì da consentire infine la presenza sulla membrana cellulare di IgM e IgD, più tardivamente nella maturazione cellulare della linea B si giunge alla sintesi di IgM pentameriche secretorie.

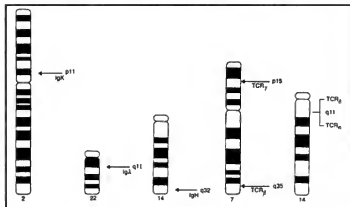
Similmente nella linea T si assiste ad un riarrangiamento dei geni codificanti per le diverse unità del recettore TCR, in un ordine temporale che vede la precessione del fenomeno nei geni γ/δ rispetto a quelli α/β.

Nel processo di riarrangiamento la collocazione delle sedi di attacco degli enzimi di restrizione in un tratto del genoma può essere modificata in vario modo, per delazione di un frammento, ravvicinamento per perdita di sequenze intermedie, comparsa *ex novo* di un sito di restrizione, etc., sicché i frammenti ottenuti con un determinato coenzima di restrizione hanno lunghezza diversa dal frammento originale. Per definizione, ogni clone di B- o T-linfociti è dotato di un recettore per l'antigene codificato da un gene strutturato con identiche sottounità geniche; è altrettanto provato che una l. linfatica (o un linfoma) è caratterizzata dalla espansione di un singolo clone di cellule linfoidi trasformate, in cui è presente l'identico tipo di riarrangiamento (le eccezioni sono rarissime). Tali riarrangiamenti vengono usualmente esplorati con il metodo del *Southern blot* (Southern, 1975) (v. BLOTTING*). Nella pratica si ritiene quasi sempre sufficiente limitare lo studio ai geni delle catene pesanti (H) e della catena leggera k delle Ig ed al gene della catena β del TCR. La struttura dei geni per le catene pesanti delle Ig può essere indagata ricorrendo ad opportuni enzimi di restrizione ed a *probes* (v. SONDE MOLECOLARI*) per la regione J(JH); lo studio dei geni delle catene leggere (k) si avvale di un *probe* corrispondente alla regione costante. Per l'esplorazione delle strutture del gene codificante per il $TCR_\beta$ si utilizza un *probe* corrispondente a $C_{\beta1}$ o a $C_{\beta2}$ (Narni, 1989).

Il reperto di un riarrangiamento strutturale dei geni codificanti per le Ig è probante per la natura B-linfoide della linea cellulare in esame e quello di un riarrangiamento dei geni codificanti il TCR è indicativo della natura T-linfoide della linea cellulare. Queste indagini possono pertanto essere sfruttate per definire la natura (T o non-T) di proliferazioni cellulari (*diagnosi di linea*) e anche la clo-

Fig. 22. Regioni cromosomiche su cui sono stati mappati i geni codificanti le immunoglobuline (catene pesanti, catene leggere k e λ) ed i geni codificanti per le componenti (α, β, γ, δ) del recettore T-linfocitario (TCR). (*Da F. Narni, in U. Torelli et al., Biologia molecolare delle leucemie e dei linfomi, 1989, USES, Firenze*).




Digitized by Google

nalità del processo (*diagnosi di clonalità*). L'affidabilità di siffatte indagini appare indiscutibile per quanto concerne il riconoscimento della clonalità (data l'assoluta specificità dei *markers*), mentre i riarrangiamenti genici non risultano specifici in assoluto come *markers* di linea. Anzitutto il riarrangiamento dei geni delle catene leggere delle Ig non è criterio necessario per attribuire una popolazione neoplastica alla linea linfoide B: infatti in circa il 40% di LLA pre-B il gene non appare riarrangiato. Inoltre in alcuni casi di LA a T-linfociti che riarrangiavano i geni $TCR_\beta$, riarrangiavano pure i geni delle catene pesanti delle Ig. Infine in l. mieloidi (LMA e LMC) sono stati reperiti sporadicamente riarrangiamenti dei geni delle Ig e del TCR e in circa il 25% di LLA-B sono stati dimostrati riarrangiamenti del TCR (Narni, 1989).

I reperti morfologici e citochimici, citogenetici, immunocitologici, e quelli ottenuti con tecniche di genetica molecolare di tipo tradizionale (*Southern blot hybridization*) sono preminentemente di natura *qualitativa*, adatti a differenziare i processi linfoproliferativi maligni dai benigni e i sottotipi delle LA. Non sono tuttavia atti a svelare l'eventuale presenza di una piccolissima popolazione neoplastica residuata dopo terapia antitumorale. L'individuazione di questa *minimal residual disease* richiede indagini condotte con criteri *quantitativi*: i procedimenti dianzi elencati non appaiono sufficientemente sensibili, non essendo in grado di svelare la presenza di cellule maligne in seno ad una globale popolazione eterogenea di cellule normali ad una concentrazione inferiore all'1%. A questo fine è invece più idonea — almeno in molti casi — la tecnica del PCR (*polymerase chain reaction amplification*) (Lee *et al.*, 1988) completata dall'impiego, quale *target*, della sequenza nucleotidica attinente alla giunzione dei segmenti genici nei *loci* riarrangiati dei recettori antigenici delle cellule linfoidi B e T. Tale tecnica si è rivelata altamente specifica ed estremamente sensibile (svela la presenza di cellule maligne alla concentrazione di $10^{-5}$ a $10^{-6}$); può tuttavia essere applicata solo nelle condizioni morbose in cui esiste una traslocazione cromosomica caratteristica ed in cui il DNA circostante ai punti di rottura sia stato molecolarmente clonato e sequenziato. Purtroppo la maggior parte delle neoplasie emopoietiche nell'uomo manca probabilmente di traslocazioni cromosomiche caratteristiche (Tycko *et al.*, 1989).

Ai fini della diagnosi routinaria di LA e di una prima confrontabilità dei reperti tra i ricercatori è tuttora indispensabile fare capo alla *classificazione citomorfologica e citochimica del gruppo FAB*, la cui riproducibilità appare accettabile malgrado critiche da più parti pervenute. La possibilità di giungere con i criteri FAB, ed eventualmente con il sussidio degli altri criteri diagnostici dianzi illustrati, ad una fondamentale distinzione della LA in forme mieloidi e linfoidi e in ben codificati loro sottotipi, non deve far dimenticare che tuttavia esistono casi di LA, non frequenti (4-5%), la cui natura appare difficilmente definibile: sono queste le condizioni un tempo etichettate come «leucemie emocitoblastiche» (Ferrata) o come «leucemie a cellule staminali» e oggi più comunemente indicate come *leucemie a cellule indifferenziate* (UAL). Benché il gruppo FAB abbia riconosciuto la loro esistenza e da alcuni sia stato proposto di indicarle come FAB-M0 o FAB-M8, non sono attualmente contemplate dalla classificazione FAB. Indagini approfondite sono state compiute ricorrendo alla ricerca della mieloperossidasi ultrastrutturale (UMPO) e della perossidasi piastrinica ultrastrutturale (UPPO), alla determinazione di antigeni di superficie con un ricco *panel* di AcMo ed eventualmente con l'immunocitochimica al microscopio elettronico a trasmissione con il metodo dell'«immunogold» (IGS) (Polli N. *et al.*, 1989), nonché all'analisi della struttura dei geni delle immunoglobuline e delle componenti del TCR: si è potuto così appurare che le UAL costituiscono un gruppo eterogeneo (Le Maistre *et al.*, 1988) e che, nella maggior parte di questi casi, la linea interessata è la mieloide (*minimally differentiated acute nonlymphocytic leukemia*; Lee *et al.*, 1987) e che ben pochi casi rimangono non classificabili né come mieloidi né come linfoidi. Per dirimere ulteriormente tali casi controversi si può anche tentare di indurre *in vitro* nei blasti leucemici l'espressione di nuovi *markers* di superficie meglio probanti della linea cellulare, mediante il trattamento con un estere forbolico (TPA) o con altri agenti eccito-maturativi (ac. retinoico, DMSO, CSF, etc.). In singoli casi di UAL si può dimostrare con indagini di ordine biomolecolare che i blasti sono bi- o multifenotipici (*acute mixed lineage leukemia*).

I singoli sottogruppi della classificazione FAB raccolgono casi con aspetti clinici comuni. Fenomenologie particolari possono tuttavia avere frequenza diversa o diverso carattere in rapporto al tipo citologico e diversa può essere la prognosi.

Tra le *fenomenologie cliniche particolari* di alcuni sottotipi citologici delle LA possiamo ricordare le cospicue linfoadenomegalie osservabili nelle LA monocitiche, l'ipertrofia del timo nelle LLA-T, le emorragie profuse da CID nella LMA promielocitica e talora nelle monocitiche, l'elevata frequenza di meningopatie leucemiche nelle LLA infantili, dove si riscontrano spesso anche infiltrazioni del periostio e delle metafisi delle ossa lunghe.

Quanto all'incidenza dei sottotipi citologici delle LA sulla *prognosi*, è ormai chiaro che la sensibilità alla terapia, la possibilità di ottenere una remissione completa in tempi brevi e la durata di questa e quindi della sopravvivenza mediana sono in rapporto a numerosi *fattori di rischio* di ordine clinico e biologico, il cui peso è particolarmente evidente nelle LA infantili. In linea di massima, l'età superiore ai 15 anni e soprattutto quella avanzata, l'appartenenza alla razza negra, l'elevata leucocitosi, la natura mieloide della LA e (nell'ambito delle LLA) il fenotipo B o T conclamati comportano una prognosi meno favorevole. Fattori di alto rischio sono altresì rappresentati da tutte le condizioni che compromettono la sensibilità alla terapia antileucemica e/o la possibilità di un adeguato ripristino della mielopoiesi normale: condizioni generali già compromesse all'esordio della malattia leucemica (indice di Karnofsky < 50%), segni di cospicua insufficienza mielopoietica, antecedenza di una sindrome mielodisplastica (per le LMA) o di un linfoma che ha già richiesto l'impiego di chemio- o radioterapia, presenza di «sindrome tumorale» (localizzazioni *bulky*, meningopatia leucemica). Sono sicuramente accertate alcune correlazioni tra anomalie cromosomiche e prognosi: decorso relativamente buono si riscontra in presenza di t(8; 21) nella M2 e di spiccata iperploidia nelle LLA; prognosi particolarmente severa comportano −7, del (7q), del (6q), del (12p), t(9; 22) nei sottotipi M1 e M2; t(9; 11) in M5; t(1; 19) in LLA pre-B; t(4; 11) in L2; t(8; 14), t(2; 8) e t(8; 22) in L3.

In linea di massima i casi di LAnL con anomalie cariotipiche maggiori (ACMA) (Sakurai e Sandberg, 1976) presentano decorso più rapidamente fatale in confronto ai casi con anomalie minori (ACMI). Infine sulla prognosi incidono pure aspetti quantitativi delle alterazioni cariotipiche, giacché i casi presentanti anomalia cariotipica in tutte le cellule midollari (AA) hanno sopravvivenza più breve (2, 4 mesi) dei casi in cui si riscontra promiscuità di cellule con cariotipo anomalo e di cellule normali (AN) (5, 9 mesi) e dei casi in cui tutte le cellule appaiono prive di documentabili anomalie (NN) (7, 9 mesi) (Emilia, 1989).

**Attuali indirizzi nella terapia delle leucemie acute dell'adulto**

L'impiego più razionale di alcuni citostatici già noti in passato, l'introduzione di farmaci nuovi ed il più esteso ricorso al trapianto midollare isogenico o allogenico od anche al trapianto autologo, insieme ad una più appropriata terapia di supporto, hanno consentito nell'ultimo decennio risultati notevoli nella terapia delle LA nell'adulto, benché meno





Digitized by Google

brillanti che in quelle dell'infanzia. L'eradicazione completa e permanente dei cloni leucemici ed il ripristino di una normale emopoiesi sono mete tuttavia ancora difficilmente raggiungibili nell'adulto, se non in una modesta quota di pazienti.

a) Le *l. acute linfoidi nell'adulto* sono da considerarsi tutte ad alto rischio. La *terapia di induzione* dev'essere condotta con protocolli particolarmente drastici: VPDA (vincristina, prednisone, daunorubicina, L-asparaginasi) o OPAL (Oncovin® [vincristina], prednisone, adriamicina, L-asparaginasi). Se la risposta non è soddisfacente si può ricorrere al COAP (ciclofosfamide, Oncovin® [vincristina], Ara-C [citarabina], prednisone) o al TRAMPCOL (tioguanina, daunorubicina, Ara-C [citarabina], metotrexato, prednisone, ciclofosfamide, Oncovin® [vincristina], L-asparaginasi) (Mauri, 1987). Con tali presidi si ottiene remissione completa nel 70-85% dei casi, ma in meno del 50% la durata della remissione supera i 24 mesi ed i soggetti lungosopravviventi non eccedono il 30%. A molti AA. sembra opportuno attuare nell'adulto, ancor più che nel bambino, una *terapia di mantenimento* postinduzione, con somministrazione giornaliera di 6-mercaptopurina, settimanale di metotrexato e con periodici *pulse* di vincristina e prednisone, per variabili lassi di tempo. È discusso se la terapia di mantenimento impedisca o ritardi sensibilmente la comparsa della recidiva.

Ad un concetto di terapia aggressiva e prolungata nel tempo si ispirano i protocolli L-10 e soprattutto L-10M sperimentati nel Memorial Sloan-Kettering Cancer Institute (Hussein *et al.*, 1989). Numerosi chemioterapici (vincristina, prednisone, adriamicina, ciclofosfamide, citarabina, metotrexato, tioguanina, L-asparaginasi, BCNU [carmustina]) vengono qui articolati in modo complesso e somministrati a lungo attraverso una fase di induzione, una di consolidamento e una di mantenimento. Le remissioni complete toccano l'85% con durata mediana di 51 mesi.

Non ancora ben documentati a distanza sono — nelle LLA dell'adulto — i risultati del *trapianto di midollo osseo*. Trapianto allogenico ed autotrapianto sembrano fornire risultati consimili. Il trapianto è stato eseguito per lo più in soggetti adulti recidivati dopo induzione ma anche in fase iniziale di malattia con fattori prognostici a rischio. I risultati più soddisfacenti sembrano raggiungibili nei pazienti con recidiva precoce dopo terapia di induzione. Nelle recidive tardive (oltre 18 mesi dall'induzione) trapianto midollare e chemioterapia aggressiva danno risultati pressoché equivalenti (v. MIDOLLO OSSEO*, *trapianto*).

In complesso gli attuali presidi terapeutici consentono a circa il 20-30% di tutti i soggetti adulti con LLA di sopravvivere per più di 5 anni. Tra i *complete responders*, in talune casistiche i lungosopravviventi toccano il 45%.

b) Nelle *l. acute non-linfoidi (mieloidi) dell'adulto* la terapia d'induzione viene ancor oggi generalmente attuata con il protocollo DA (daunomicina, Ara-C [citarabina]: cosiddetto *3 + 7 regimen*) o con il DAT (*idem* più tioguanina): si ottiene remissione completa nel 65-70% dei casi, con sensibili variazioni in rapporto all'età del paziente (> 80% in età inferiore ai 40 anni; 40-50% in età superiore ai 60 anni); la remissione completa dura in genere meno di 10 mesi. Il ricorso a terapie più aggressive, impiegando altissime dosi di citarabina (3 g/*die* per 4-5 giorni) o amsacrina o mitoxantrone o etoposide o idarubicina in varia associazione tra loro ed eventualmente con daunorubicina, L-asparaginasi e tioguanina, non sembra consentire sostanziali vantaggi in termini di frequenza di remissione completa e della sua persistenza nel tempo ed è causa di notevoli effetti tossici, specie nel vecchio, e di complicanze infettive (Lazarus *et al.*, 1989).

Ottenuta la remissione completa, molti AA. sono favorevoli ad istituire un *trattamento post-remissione* che può essere articolato in vario modo: 1) *terapia di mantenimento*, avvalendosi degli stessi farmaci impiegati nella terapia di induzione ma a dosi minori oppure con i classici schemi mercaptopurina + metotrexato (POMP) oppure ricorrendo anche ad antracicline: la terapia può prolungarsi per 10-18 mesi; sembra particolarmente utile nella LMA M3; 2) cosiddetta *terapia di consolidamento*, effettuata reimpiegando periodicamente gli stessi protocolli usati per l'induzione; 3) cosiddetta *terapia intensificata*, che può essere realizzata in due modi diversi: *a)* impiego periodico di protocolli mono- o polichemioterapici ad elevato dosaggio con farmaci uguali o diversi da quelli usati nell'induzione; *b)* terapia sovramassimale con chemioterapia [CT] ad altissime dosi e TBI (*Total Body Irradiation*) seguita dal *trapianto* di midollo osseo.

I risultati raggiungibili con l'uno o l'altro indirizzo non sono sostanzialmente diversi e le risposte favorevoli sono in ambedue correlate all'età del paziente, essendo più frequenti nei soggetti giovani che negli anziani. Sul successo del trapianto incide anche il momento in cui viene effettuato, se in corso di prima remissione o dopo recidiva, nel qual caso il buon esito è più aleatorio. Mediamente il 45% dei soggetti adulti con LMA sottoposti a trapianto midollare in prima remissione risulta libero da malattia ancora dopo 4-5 anni: però la remissione completa prolungata è più frequente (70%) nei soggetti con età inferiore ai 20 anni che in quelli di 30-50 anni (30%). Questi limiti in rapporto all'età del paziente e la difficoltà a reperire un donatore istocompatibile fanno sì che solo circa il 10% dei pazienti con LMA possa essere sottoposto a trapianto di midollo osseo. Anche questa considerazione impone ogni sforzo per migliorare le possibilità eradicanti della CT, che indubbiamente esistono. Una delle indicazioni tassative del trapianto midollare resta comunque il paziente con malattia primariamente refrattaria alla CT d'induzione: i successi del trapianto allogenico si aggirano in queste condizioni sul 10-20%. Numerosi sono i tentativi di procedere al *trapianto autologo* prelevando e criopreservando il midollo osseo ottenuto dal paziente in fase di completa remissione ematologica e procedendo alla rimozione selettiva delle eventuali cellule leucemiche residue con AcMo, mafosfamide, 4-idrossiperossilciclofosfamide. La validità di questi procedimenti non è da tutti condivisa (v. MIDOLLO OSSEO*, *trapianto*).

In definitiva si può presumere che nelle LMA dell'adulto circa il 20-30% dei pazienti giunti a remissione completa e circa il 10% di tutti i pazienti comunque trattati rimangano attualmente in vita per più di 5 anni. È prematuro dire quanti di questi pazienti possano essere considerati definitivamente guariti.

Un approccio terapeutico innovativo è quello basato sulla somministrazione di fattori eccitomaturativi, così promettenti nella sperimentazione *in vitro*. I risultati clinici non sono stati generalmente di grande rilievo, ma in casi di M3 l'ac. all-*trans*-retinoico (Tretinoin®, 45 mg/m² *die*, *per os*, per 1-2 mesi) promuove spesso la maturazione morfologica e fenotipica delle cellule leucemiche fino ad uno stadio senescente non più proliferante e induce RC di durata anche superiore ai 6 mesi, con ricrescita preferenziale di normali elementi mieloidi (Warrell *et al.*, 1991).

**Bibliografia**

Appelbaum F. R., *Semin. Hematol.*, 1988, **25**, 16.
Bennett J. M. *et al.*, *Ann. Intern. Med.*, 1985, **103**, 620.
First MIC Cooperative Study Group, *Cancer Genet. Cytogenet.*, 1986, **23**, 189.
Foon K. A., Todd R. F., *Blood*, 1986, **68**, 1.
Griffin Y. D., *Hematol. Pathol.*, 1987, **1**, 81.





Digitized by Google

Hussein K. K., Dahlberg S., Head D. *et al.*, *Blood*, 1989, **73**, 57.
Lazarus H. M. *et al.*, *Cancer*, 1989, **63**, 1055.
Lee M. J., Pollak A., Leavitt R. D. *et al.*, *Blood*, 1987, **70**, 1400.
Lee M. J. *et al.*, *Science*, 1988, **237**, 175.
Le Maistre A. *et al.*, *Hematol. Pathol.*, 1988, **2**, 79.
Mauri C., *Malattie del sangue e degli organi emopoietici*, in Teodori U. (ed.), *Trattato di Medicina Interna*, 1987, vol. 3, Universo, Roma, pp. 2207-2502.
Polli N. *et al.*, *Haematologica*, 1989, **74**, 129.
Sakurai M., Sandberg A. A., *Cancer*, 1976, **37**, 285.
Second MIC Cooperative Study Group, *Cancer Genet. Cytogenet.*, 1988, **30**, 1.
Stamatoyannopoulos G., Nieuhuis A. W., Leder Ph., Majerus Ph. W. eds., *The Molecular Basis of Blood Diseases*, 1987, Saunders, Philadelphia.
Stass S. A. ed., *The Acute Leukemias. Biology, Diagnostic, and Therapeutic Determinants. Hematology*, 1987, vol. 6, Marcel Dekker, New York.
Torelli N., Emilia G., Torelli G., Ferrari S., Narni F., *Biologia molecolare delle leucemie e dei linfomi*, 1989, USES Firenze.
Twu B-H. *et al.*, *Am. J. Hematol.*, 1987, **25**, 13.
Tycko B., Palmer J. D., Link M. P. *et al.*, *Cancer cells*, 1989, **7**, 47.
Walters R. J. *et al.*, *Cancer*, 1988, **62**, 677.
Warrell R. P. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1991, **324**, 1385.

CARLO MAURI

## LEUCEMIA LINFATICA ACUTA DELL'INFANZIA

**Introduzione**

La leucemia linfatica o linfoblastica acuta (LLA) rappresenta circa l'80% delle forme leucemiche che colpiscono l'età pediatrica. A partire dagli anni '70 si è modificato il concetto che la LLA del bambino sia una malattia inguaribile e letale. Infatti attualmente circa il 70% dei bambini con LLA riesce a superare i 5 anni dalla diagnosi senza presentare recidive della malattia: di questi la maggior parte è da ritenersi guarita.

Se osserviamo la storia della terapia della l., ci rendiamo conto facilmente che i notevoli miglioramenti e la parziale modificazione della prognosi non sono tanto legati all'introduzione di nuovi farmaci o presidi terapeutici, quanto al diverso approccio oggi adottato verso il malato. Infatti, le curve della durata della prima remissione e della sopravvivenza totale ottenute in centri dove lavorano *équipes* specializzate, sono ben diverse da quelle degli ospedali generici, dove il bambino è affidato a pediatri che non si occupano preminentemente di malattie ematologiche e oncologiche.

All'esordio della malattia è necessario valutare nel modo più completo ed esatto possibile le varie caratteristiche cliniche, morfologiche e funzionali, considerando i vari fattori prognostici, al fine di scegliere lo schema terapeutico più adatto al singolo caso.

**Incidenza**

La l. è, assieme alle altre neoplasie maligne, una delle maggiori cause di morte del bambino in età superiore a 1 anno, venendo subito dopo gli incidenti, nelle nazioni a elevato standard di vita sociale. Si calcola che l'incidenza sia di circa 4 bambini leucemici ogni 100.000 abitanti. Iversen (1966) calcola il rischio per un bambino di ammalare di l. in 65 ± 4 su 100.000 per i maschi, e 46 ± 3 su 100.000 per le femmine. Miller, nel 1967, ha segnalato per i bambini americani di razza bianca un'incidenza di 34,7 su 100.000.

L'età più colpita va dai 4 ai 6 anni, secondo le maggiori statistiche. In tutte le casistiche appare leggermente più colpito il sesso maschile.

Nell'ambito delle varie forme, la frequenza della LLA è di circa l'80% (77,96% secondo Pierce *et al.*, 1969), della l. mieloblastica acuta (LMA) è di circa il 10,8% (8,47 secondo Pierce *et al.*, 1969), mentre sono rarissime le altre, tra cui l'eritroleucemia e la l. mieloide cronica. La nostra casistica conferma tali dati (LLA 90%, LMA 9%, altre 1%).

L'epidemiologia riguardante l'incidenza della l. dimostra che non esiste, nel corso degli ultimi anni, un aumento significativo nel bambino, a differenza di quanto si osserva nell'adulto. Si pensa che la ragione di tale comportamento consista nel ruolo che i fattori ambientali possono svolgere di per sé nell'adulto, e non nel bambino, a causa sia dell'allungamento medio della vita che si è prodotto negli ultimi decenni, sia del maggior periodo di esposizione agli agenti cancerogeni. Sempre più evidente è il divario tra incidenza e mortalità dovuto al miglioramento delle possibilità terapeutiche.

I carcinogeni agenti sulla madre possono svolgere un ruolo sia teratogeno che leucemogeno. In particolare si tratta di farmaci per l'aborto, delle irradiazioni in gravidanza, delle terapie con antiblastici o immunodepressori.

Knudson e Strong (1972) hanno elaborato una teoria per il ruolo della carcinogenesi, chiamata *two hits theory* (teoria dei due colpi), nella quale il primo colpo consiste nell'anomalia ereditaria, il secondo nella causa scatenante del tumore. In effetti, dalle malformazioni e da tumori benigni indotti dal carcinogeno della madre possono svilupparsi nel bambino tumori maligni, qualora non vengano messi in atto meccanismi di derepressione, quali sono stati ipotizzati in base allo studio dell'alta incidenza di tumori in stadi iniziali osservati in feti e neonati deceduti per altre cause.

**Sintomatologia e diagnosi**

Non esiste una sintomatologia tipica della LLA, in quanto ogni sintomo può essere espressione di altra malattia che, secondariamente, colpisca il sistema linfoemopoietico. Quelli che si riscontrano nella quasi totalità dei casi, variamente combinati, sono pallore, astenia, febbre, facilità a presentare ecchimosi, petecchie e altre manifestazioni emorragiche (v. LEUCEMIE, VIII, 1557-1558, figg. 30 e 31), dolori cosiddetti reumatici. In circa il 70% dei bambini sono presenti splenomegalia, epatomegalia, linfadenopatia (v. LEUCEMIE, VIII, 1557, fig. 30) spesso generalizzata. Nel 10% circa dei bambini, soprattutto nei maschi adolescenti, può riscontrarsi un ingrandimento del mediastino, segno questo caratteristico ma non esclusivo della LLA a cellule T. Possono esistere lesioni scheletriche di vario grado, quali bande metafisarie trasversali, osteoporosi generalizzata, infiltrati periostei (v. LEUCEMIE, VIII, 1559, fig. 33), distacchi periostei e lesioni osteolitiche. All'esordio possono anche riscontrarsi, sebbene con bassa frequenza, segni di compromissione neurologica (meningopatia, paralisi), infiltrazioni delle gonadi, particolarmente dei testicoli, delle ghiandole salivari, dei reni e noduli sottocutanei. Pertanto spesso i bambini giungono in ospedale con altro sospetto diagnostico, e solo gli esami ematologici possono chiarire la natura della malattia.

In effetti il processo patologico sistemico di trasformazione maligna e proliferazione della linea cellulare leucemica viene a sostituire la normale popolazione midollare e di conseguenza induce una piastrinopenia responsabile dei fenomeni emorragici, una granulocitopenia che può facilitare l'insorgenza di infezioni, la diminuzione dei linfociti normali immunocompetenti che condiziona la depressione immunologica, una deficiente produzione di globuli rossi che provoca l'anemia più o meno grave. Possono esistere infiltrazioni e tumefazioni di vari organi appartenenti al sistema linfatico e dei parenchimi, la cui sintomatologia è legata alle diverse localizzazioni.

Ciascuno di questi sintomi può essere la manifestazione





Digitized by Google

di altra malattia: dalla porpora trombocitopenica, alla aplasia midollare, alla malattia reumatica, a infezioni varie, etc., per cui è importante la diagnosi differenziale.

Merita un cenno a parte la descrizione della *l. congenita*. Si tratta di una forma particolarmente rara, che colpisce il bambino in età variante dai primi giorni di vita ad alcuni mesi. La maggior parte dei casi non ha la forma linfatica bensì la forma mieloide. Dalla letteratura risulta che la l. congenita non è legata a una l. materna; solo in casi rarissimi di madri leucemiche in stadio avanzato l'infiltrazione della placenta induce la l. connatale del bambino. La l. congenita colpisce frequentemente lattanti con sindrome di Down o con altre anomalie cromosomiche, quali trisomia D, sindrome di Turner, mosaicismi.

La sintomatologia è molto evidente e permette di porre facilmente il sospetto diagnostico. Oltre a cospicua epatosplenomegalia, alla presenza di petecchie ed ecchimosi e altre manifestazioni emorragiche, si riscontrano spesso i «leucemidi», che sono infiltrati sottocutanei di cellule leucemiche che si presentano come dei piccoli noduli di consistenza fibromatosa, di colore blu o grigio. Spesso coesistono sintomatologia respiratoria, febbre, diarrea e arresto dell'accrescimento ponderale.

I quadri ematologico e midollare non si differenziano da quelli descritti per la LLA dell'adulto (v. LEUCEMIE, VIII, 1530). Dal punto di vista ematologico si tratta, di solito, di forme leucocitosiche. Si osserva infiltrazione dei parenchimi, evidenti anche all'esame istologico.

Il decorso della malattia è piuttosto grave e rapido. Altro fattore legato alla difficoltà d'indurre e di mantenere la remissione è la difficile tollerabilità degli antiblastici da parte del neonato e del lattante. Nei bambini con sindrome di Down sono state descritte delle remissioni spontanee, ma transitorie.

I quadri descritti possono anche essere riferibili ad altre malattie che compaiono nei primi mesi di vita, quali la malattia emolitica neonatale, la lue connatale, l'infezione da citomegalovirus, la rosolia, la toxoplasmosi, la sepsi da vari germi. La sintomatologia emorragica può essere invece riferibile a una coagulopatia congenita. Sono inoltre da ricordare: il neuroblastoma congenito che, parimenti alla l., presenta i noduli sottocutanei, e l'istiocitosi X (v.; v.*), particolarmente la forma di Letterer e Siwe.

Per quanto riguarda il bambino con sindrome di Down esistono delle turbe ematologiche transitorie, non bene identificate, che possono simulare all'inizio la l. acuta.

**Caratterizzazione immunologica**

La trasformazione maligna e l'espansione clonale possono verificarsi in stadi diversi della differenziazione linfoide, come è dimostrato dalla varietà dei reperti immunologici e molecolari riscontrabili nei linfoblasti leucemici.

Con l'utilizzazione di eteroantisieri e di anticorpi monoclonali attualmente si possono distinguere 4 fenotipi immunologici di LLA: T-LLA (15-20%), B-LLA (1-2%), pre B-LLA (75-80%), *null*-LLA (circa il 5%).

Le LLA pre B sono caratterizzate da linfoblasti che esprimono un antigene comune (c ALLA) e si distinguono in pre B precoci (70%) e pre B (30%) per la presenza, esclusivamente nelle pre B, di immunoglobulina intracitoplasmatica, testimone di una fase di sviluppo più avanzata. La prognosi nella pre B risulta peggiore rispetto alle pre B precoci (Greaves *et al.*, 1981; Crist *et al.*, 1985).

Le *null*-LLA devono la definizione di forma linfoblastica esclusivamente alla positività della TdT (*terminal* deossinucleotidil-transferasi) essendo assenti tutti gli altri marcatori linfoidi.

**Caratterizzazione molecolare**

Studi di biologia molecolare suggeriscono l'esistenza di riarrangiamenti dei geni delle immunoglobuline nei precursori delle cellule leucemiche B (Crist *et al.*, 1985). In questo ordine di sviluppo si verifica prima il riarrangiamento delle catene pesanti, seguito da quello delle catene leggere k e λ. Lo studio del riarrangiamento delle catene può quindi permettere di diagnosticare lo stadio di maturazione delle cellule leucemiche B-precursori. Per la dimostrazione dello stadio di maturazione delle cellule T si usano anticorpi monoclonali (Crist *et al.*). Inoltre l'applicazione della tecnologia del DNA ricombinante fornisce su base molecolare metodi di valutazione dei vari stadi di differenziazione delle cellule T. È possibile dimostrare una correlazione tra la espressione dei recettori α, β e τ delle cellule T e i loro antigeni di superficie. Tuttavia questi marcatori non possono essere usati da soli per diagnosticare le linee pre B e T perché talvolta è possibile un *overlapping* (Felix *et al.*, 1987). L'esistenza di marcatori molecolari di maturazione ha comunque migliorato le conoscenze sulle cellule leucemiche precursori sia della linea B che T.

Sebbene la maggior parte dei casi esprima antigeni di superficie e marcatori molecolari che le identificano come derivati da una linea specifica, esistono casi di l. bifenotipica, in cui le cellule manifestano marcatori di diversi tipi (sia B che T o addirittura marcatori linfoidi e mieloidi) (Stass e Murri, 1976).

**Citogenetica**

Grazie ai miglioramenti ottenuti nelle tecniche citogenetiche è possibile al momento attuale dimostrare in più del 90% dei casi anomalie nel numero o nella struttura dei cromosomi delle cellule leucemiche (Look, 1985).

Tra le varie anomalie numeriche predominano la diploidia e l'iperdiploidia. Tali caratteristiche appaiono correlate con la prognosi, in particolare l'iperdiploidia (con numero > 50) presenta l'andamento migliore, mentre la pseudodiploidia costituisce un fattore prognostico sfavorevole.

Le anomalie strutturali di gran lunga più comuni sono le traslocazioni (Felix *et al.*, 1987). Le più comuni includono il cromosoma Ph; la t(9; 22) (q 23; q 11), la t(8; 14) (q 24; q 23), la t(4; 11) (q 21; q 23), la t(12; v) (p; v) e la t(1; 19) (q 23; p 13.3). La anomalia t(8; 14) (q24; q23) appare specifica della l. B. La t(1; 19) (q 23; p 13.3) è stata trovata in circa 1/3 dei casi di l. pre B. La t(11; 14) (p 13; q 13) è stata vista unicamente nella l. T. La traslocazione Ph' notata nella LLA è simile cariotipicamente a quella osservata nella LMC, sebbene vi siano differenze a livello molecolare (diverso *breakpoint*). I pazienti con LLA e Ph'-positività presentano un'alta incidenza di resistenza alla terapia di induzione e in generale rispondono male alla terapia.

**Diagnosi differenziale**

La diagnosi differenziale deve essere fatta a due livelli, clinico ed ematologico di laboratorio. Anzitutto si deve pensare alla possibilità che un bambino abbia una l. acuta ogni volta che esista una sintomatologia cosiddetta reumatica, resistente alle comuni terapie, oppure l'associazione di pallore, linfadenopatia anche modesta, dimagramento, astenia, anoressia, febbricola. In tutti questi casi è necessario non limitarsi a eseguire un esame emocromocitometrico, ma si deve praticare un puntato midollare per chiarire la natura della malattia.

La diagnosi differenziale deve essere pure posta sulle caratteristiche morfologiche del sangue e del midollo al fine di poter escludere la mononucleosi infettiva, la linfocitosi infettiva, l'aplasia midollare, il neuroblastoma con inva-



Digitized by Google

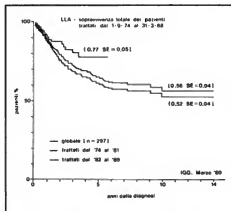



Fig. 23. Curva attuariale di sopravvivenza in 297 bambini affetti da LLA trattati presso l'Istituto G. Gaslini di Genova con diversi protocolli dal settembre 1974 al marzo 1988 (aggiornamento al marzo 1989).

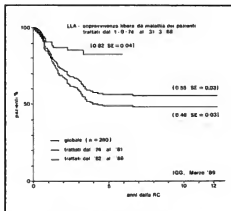



Fig. 24. Curva attuariale di durata della prima remissione completa in 280 bambini affetti da LLA trattati presso l'Istituto G. Gaslini di Genova con diversi protocolli dal settembre 1974 al marzo 1988 (aggiornamento a marzo 1989).

sione midollare, la porpora trombocitopenica idiopatica, le reazioni leucemoidi eventualmente legate a varie malattie batteriche o virali.

**Prognosi**

Che possibilità ha di guarire un bambino affetto da LLA seguito adeguatamente? Attualmente si ritiene che almeno il 60-70% dei bambini possano superare i 5 anni dall'esordio della malattia, senza ricadute e che un'altissima percentuale di questi possa guarire definitivamente.

In particolare risulta buona la prognosi dei pazienti che completano senza recidive l'intero ciclo di terapia, poiché l'80% è destinato a rimanere in remissione completa prolungata. Il rischio di recidiva infatti cessa virtualmente dopo 6 anni dalla diagnosi. Nel restante 20% si verifica una recidiva, nella maggior parte dei casi durante il 1° anno dalla sospensione della terapia. Nelle figg. 23, 24 e 25 sono rappresentate le curve di sopravvivenza e di prima remissione completa dei pazienti seguiti dal settembre 1974 al marzo 1988 nell'Istituto G. Gaslini di Genova.

*Fattori prognostici.* – Recentemente l'osservazione che alcune caretteristiche cliniche evidenti alla diagnosi posseggano un valore prognostico, permettendo di assegnare i pazienti a diverse classi di rischio, ha drammaticamente modificato l'approccio terapeutico a questa malattia. Attualmente la maggior parte dei Centri usa protocolli terapeutici diversi a seconda delle classi di rischio. Il numero dei globuli bianchi iniziali e l'età alla diagnosi sono gli indicatori più significativi della prognosi, sia per quanto riguarda la durata della remissione che la sopravvivenza. Infatti più alto è il numero dei blasti periferici iniziali e peggiore è la prognosi. Inoltre i bambini di età inferiore a 2 anni e superiore a 10 presentano una evoluzione più sfavorevole rispetto a quelli di età intermedia; quelli di età inferiore a 1 anno hanno la prognosi peggiore.

Altre caratteristiche cliniche che sono state correlate con la prognosi includono la citogenetica, il sesso, la razza, il grado di interessamento epatosplenico e linfoghiandolare, la presenza di massa mediastinica, l'emoglobina, le piastrine, la classificazione FAB (French-American-British Cooperative Group), il fenotipo immunologico, il livello di immunoglobuline, l'interessamento del S.N.C. e la risposta midollare al 14° giorno. Alcuni di questi fattori hanno tuttavia un valore predittivo dipendente da altri, inoltre l'importanza prognostica relativa di alcuni varia nei diversi studi, per le differenze esistenti sia nel tipo di schema terapeutico utilizzato che nella popolazione di pazienti trattati. Non essendoci nei vari Centri la volontà di ottenere una classificazione prognostica unitaria, l'analisi comparativa dei risultati terapeutici appare spesso difficile.

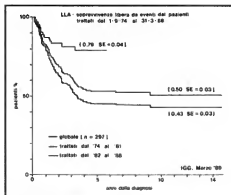



Fig. 25. Curva attuariale di sopravvivenza libera da eventi (pregressa malattia, recidiva, decesso per tossicità, decesso per malattia, etc.) in 297 bambini affetti da LLA trattati presso l'Istituto G. Gaslini di Genova con diversi protocolli dal settembre 1974 al marzo 1988 (aggiornamento a marzo 1989).





Digitized by Google

**Terapia della leucemia linfatica acuta dell'infanzia**

L'osservazione che la LLA sia una malattia biologicamente eterogenea e che i pazienti possano essere suddivisi in vari gruppi di rischio indica la necessità di applicare schemi terapeutici diversi, a seconda delle caratteristiche prognostiche. Inoltre la complessità della valutazione iniziale, clinica, immunologica e biochimica, e l'aggressività dei protocolli terapeutici attualmente in uso rendono indispensabile il ricovero di questi pazienti in Centri specializzati.

Nella fig. 26 sono evidenziate le località dei Centri afferenti alla Associazione Italiana di Ematologia e Oncologia Pediatrica (AIEOP) nelle quali vengono adeguatamente curati i bambini affetti da l. e tumori maligni, seguendo per tutti gli stessi criteri e gli stessi protocolli terapeutici. Questo elenco può servire anche al medico generico e al pediatra per decidere in quale Centro inviare il proprio paziente.

La terapia si articola in varie fasi: l'induzione, l'eventuale consolidamento, il mantenimento con o senza reinduzioni cicliche, la profilassi della meningopatia, la terapia di supporto o collaterale.

L'*induzione* della remissione della LLA è costituita, in quasi tutti i protocolli, dalla contemporanea somministrazione di prednisone (PRD) e vincristina (VCR) 1 volta alla settimana, per 4-6 settimane (Jacquillat *et al.*, 1973; Pavlowsky *et al.*, 1973; Pinkel, 1976; Report Medical Council, 1973). Questa terapia è capace d'indurre la remissione completa in circa il 90-95% di bambini. Per migliorare tale percentuale, dalle varie Scuole sono stati di volta in volta aggiunti farmaci con diverso meccanismo d'azione, particolarmente la daunorubicina (DNR), l'adriamicina (ADR) e la L-asparaginasi (ASP).

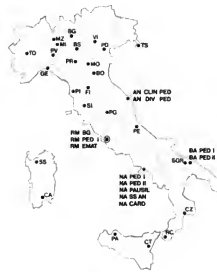



Fig. 26. Associazione Italiana di Ematologia e Oncologia Pediatrica (AIEOP): centri partecipanti ai protocolli terapeutici per la LLA.

La *remissione* completa consiste nella scomparsa delle cellule leucemiche dal sangue periferico e nella presenza, nel midollo, di blasti in percentuale inferiore al 5%. Tuttavia è ben noto che tale stato non significa l'assoluta scomparsa dei blasti. Si calcola infatti che durante la fase di remissione persistano nei vari organi e apparati da $1 \times 10^4$ a $1 \times 10^9$ cellule maligne. Proprio a tale scopo quasi tutte le Scuole ritengono opportuno praticare un ciclo di citoriduzione chiamato anche consolidamento (Fernbach *et al.*, 1975). La durata della remissione completa è legata preminentemente ai seguenti tre fattori: qualità della remissione ottenuta, malignità delle cellule leucemiche, efficacia della terapia di mantenimento.

*Profilassi delle localizzazioni nel S.N.C.*

Una delle aree più difficilmente raggiungibili dalla chemioterapia è il S.N.C., per cui, non appena ottenuta la remissione ematomidollare completa, è necessario praticare tempestivamente la profilassi per le complicanze neurologiche. All'esordio della malattia, la piastrinopenia può causare degli stravasi ematici anche a livello del S.N.C.; le cellule leucemiche possono indovarsi nelle pareti vasali e nel connettivo trabecolare dell'aracnoide superficiale; di qui, in seguito, possono passare nel liquor e annidarsi nell'aracnoide profonda, nella pia e infine nella materia grigia e bianca.

La profilassi della meningo-leucemia viene eseguita sfruttando tre possibilità:

1) l'introduzione per via endorachidea di farmaci antiblastici quali il metotrexate (MTX) e/o l'Ara-C (arabinofuranosilcitosina o citarabina), eseguita come induzione ed eventualmente in seguito con intervalli regolari di 2-3 mesi ciascuno durante tutto il periodo in cui verrà praticata la terapia (Spiers *et al.*, 1975);

2) la cobaltoterapia cranica (1800-2400 rad), associata all'introduzione endorachidea di MTX;

3) i farmaci per via generale ad alte dosi, capaci di passare la barriera ematoliquorale, come il MTX e l'Ara-C.

La prima modalità presenta effetti collaterali trascurabili ma offre una sufficiente protezione soltanto nella classe a basso rischio. L'aggiunta della cobaltoterapia cranica alla chemioterapia intratecale appare necessaria nelle fasce a medio e ad alto rischio, ma produce effetti collaterali sia a breve (alopecia, anoressia, nausea, vomito, febbre, perdita di peso) che a lungo termine (anomalie del sistema immunitario, alterazioni endocrine, tumori cerebrali). Per questi motivi sono allo studio per il medio rischio schemi alternativi, che utilizzano il MTX per via parenterale a medie o alte dosi (3-5 g/m$^2$) e riduzione (1200 rad) o abolizione della radioterapia.

Per quanto riguarda la fascia ad alto rischio, che ha la maggiore probabilità di sviluppare una recidiva al S.N.C., vengono attualmente usate tutte e tre le modalità, variamente combinate (Bleyer e Poplack, 1985).

La *citoriduzione* o *consolidamento* consiste in un ciclo di chemioterapia aggressiva somministrata dopo l'ottenimento della remissione; utilizza farmaci diversi da quelli usati durante l'induzione e ha lo scopo di diminuire i rischi di una farmacoresistenza. L'uso della fase di consolidamento ha portato a sensibili miglioramenti nei risultati relativi alla fascia ad alto rischio. Gli schemi del BFM (Berlino-Francoforte-Monaco, sigla del gruppo tedesco di ematoncologia pediatrica) originati in Germania occidentale, ma attualmente applicati in buona parte dell'Europa, prevedono la ripetizione della sequenza induzione-consolidamento subito dopo la fase di profilassi della meningopatia leucemica, con il risultato di un notevole miglioramento della soprav-



Digitized by Google

vivenza libera da malattia anche nella fascia ad alto rischio (65%) (Riehm *et al.*, 1987).

Il *mantenimento* della remissione viene eseguito per un periodo di 2 anni. Quasi tutte le Scuole sfruttano l'associazione contemporanea di pochi farmaci con tossicità non molto elevata, a dosi tali da non interferire sulla normale crasi ematica: 6-mercaptopurina, MTX (metotrexate), CTX (ciclofosfamide), ma il mantenimento può essere eseguito anche con l'impiego di numerosi farmaci a dosi elevate, somministrati o in associazione contemporanea o in sequenza ciclica. I dosaggi indicati nei protocolli sono impiegati qualora le condizioni ematologiche siano nei limiti della norma: se ci si trova di fronte a situazioni di depressione ematologica vanno modificati (Massimo e Comelli, 1979).

Si usa *sospendere la chemioterapia* dopo 2 anni dall'esordio, se non sono sopravvenute ricadute, oppure dopo 2-3 anni dall'ultima ricaduta. Nel periodo successivo, il bambino va seguito oculatamente a brevi distanze di tempo per escludere eventuali riprese della malattia a livello ematomidollare, meningeo, o a carico di altri organi (gonadi, reni, etc.) e per la sorveglianza di eventuali effetti indesiderati della terapia.

*Terapia collaterale*

La terapia collaterale ha un'importanza preminente per ottenere il migliore successo. Numerosi sono i pericoli che corre il bambino affetto da l. prima che s'inizi il trattamento e durante le varie fasi terapeutiche. I maggiori sono legati sia alla carenza di difese immunologiche e di granulociti, ambedue responsabili di infezioni da batteri, virus, miceti, sia alla piastrinopenia responsabile di fenomeni emorragici, sia, infine, agli effetti tossici dei farmaci antiblastici. Questi ultimi possono indurre una pancitopenia oppure agire in modo sfavorevole su particolari organi, quali cuore (doxorubicina e daunorubicina), fegato (quasi tutti gli antiblastici), reni (ciclofosfamide, etc.), S.N.C. (metotrexate).

La terapia collaterale di supporto deve quindi evitare, per quanto possibile, o curare tali situazioni. Vanno regolarmente impiegate, all'esordio della malattia, infusioni di liquidi per garantire un'adeguata idratazione e alcalinizzazione, allopurinolo contro l'iperuricemia, antibiotici contro eventuali infezioni, concentrati di globuli rossi e/o di piastrine. Nei bambini molto piccoli o con difficile situazione venosa viene inserito un catetere centrale endoatriale (di Broviac o di Hickman) che assicura un duraturo accesso venoso, e facilita così, senza traumi per il paziente, sia i prelievi che la somministrazione delle infusioni terapeutiche, idratanti e trasfusionali. Gli antimicotici possono avere un impiego specifico se insorge una micosi, particolarmente la moniliasi. Altre gravi complicazioni possono essere legate a *Pneumocystis carinii*, contro il quale, con buoni risultati, si possono usare il trimetoprim, il sulfametossazolo, la pentamidina o a malattie virali tra cui soprattutto la varicella o l'*herpes zoster*, per i quali è opportuno somministrare tempestivamente l'aciclovir e, quando ne esista una particolare indicazione, anche il plasma immune (ZIP: *Zoster Immune Plasma*) o le immunoglobuline immuni (ZIG) (Pinkel, 1976).

La leucoencefalopatia è fortunatamente una rara manifestazione dovuta esclusivamente alla terapia delle complicazioni neurologiche. È indispensabile che la terapia collaterale venga instaurata con la massima tempestività. Questo si può ottenere solo se il bambino viene seguito da un'*équipe* specializzata che coinvolga nella responsabilità anche il personale paramedico e i familiari.

V. anche: LEUCEMIE (VIII, 1627; 1629).

*Terapia delle ricadute ematomidollari*

Sebbene la prognosi della LLA sia migliorata nel corso degli ultimi anni e sia possibile riuscire a mantenere in prima remissione una buona percentuale di bambini, fino a permettere la loro guarigione, tuttavia le ricadute ematomidollari sono ancora una realtà. Dall'analisi della letteratura sulla terapia della l. emerge il concetto che il trattamento delle ricadute non può seguire uno schema prestabilito ma è in diretto rapporto con alcuni fattori. In modo particolare si deve valutare se la ricaduta sia insorta durante il trattamento o se essa sia avvenuta quando ogni terapia era sospesa da un periodo di tempo più o meno lungo. Nella prima situazione si deve escludere l'impiego di quei farmaci che non sono riusciti a impedire la ripresa della malattia: in linea generale il protocollo da impiegare deve sfruttare associazioni di antiblastici in modo da agire sulla cellula bersaglio con più meccanismi. Se il bambino era già in trattamento con protocolli di questo tipo, adatti per le forme ad alto rischio, restano poche probabilità di riuscire a indurre una nuova remissione. In questi casi è indicato sia l'uso di farmaci in sperimentazione clinica che di nuove associazioni. Il trapianto di midollo trova la sua indicazione qualora si riesca a riportare il malato nuovamente in remissione completa ed esista un donatore compatibile. Se, al contrario, si tratta di una prima ricaduta, insorta in bambini in cui la terapia era stata sospesa da mesi o da anni, dopo trattamento adeguato, evento che colpisce circa il 20% di tali pazienti, è opportuno riprendere la terapia con protocollo per alto rischio, differente da quello usato in precedenza, che preveda una fase di induzione, il consolidamento e il mantenimento con o senza reinduzioni cicliche.

*Terapia delle complicanze del S.N.C.*

In una piccola percentuale di bambini profilassati adeguatamente (circa il 5%) e in un elevato numero di quelli non sottoposti alla profilassi (circa il 60%) si manifesta la meningopatia leucemica a distanza di tempo dall'esordio, o durante una ricaduta o, più frequentemente, durante la remissione completa ematomidollare. L'esame del liquor, praticato di routine a intervalli di tempo prestabiliti, permette spesso di svelare la presenza di cellule leucemiche in numero così basso da non provocare ancora la classica sintomatologia dell'ipertensione endocranica. È infatti opportuno che l'esame venga sempre completato dall'osservazione della morfologia delle cellule e arricchimento mediante la citocentrifuga: la presenza di un solo blasto leucemico è segno di invasione. La meningopatia può manifestarsi sia all'esordio della malattia che in seguito, in concomitanza di ricadute o anche dopo anni di decorso favorevole e in remissione ematologica. Frequentemente però precede la recidiva ematologica o come primo segno di una successiva colonizzazione midollare, o secondo alcuni AA., come espressione precoce di una malattia più aggressiva che ha maggior probabilità di diffondersi al midollo. Per questi motivi l'orientamento attuale è quello di aggiungere anche nel caso di una recidiva isolata del S.N.C. una terapia sistemica aggressiva al trattamento specifico locale. Questo consiste nell'irradiazione craniospinale, o nella terapia intratecale sia di induzione (4-6 dosi settimanali) che di mantenimento (1 dose ogni 45-90 giorni) o nella terapia intraventricolare attraverso un serbatoio di Ommaya appositamente inserito con un piccolo intervento chirurgico.

*Terapia delle principali localizzazioni leucemiche escluso il S.N.C.*

Durante la remissione completa o, a volte, in concomitanza con la ricaduta ematomidollare, possono manifestarsi infil-





Digitized by Google

trazioni localizzate ad alcuni organi (gonadi, occhio). Le più frequenti sono le gonadi, particolarmente i testicoli. Spesso queste localizzazioni isolate sono resistenti alla chemioterapia somministrata per via generale, per cui è necessario ricorrere alla radioterapia, preferibilmente con cobalto o acceleratori lineari, limitata all'area colpita per un totale di 2000-2400 rad per focolaio (20-24 Gy).

*Trapianto di midollo osseo*

Il trapianto di midollo osseo è da tempo impiegato nella terapia della LLA resistente alla chemioterapia, in seconda remissione completa dopo ricaduta midollare verificatasi in corso di terapia antiblastica o entro 6 mesi dalla sua sospensione. Molto controversa è invece l'indicazione dopo una ricaduta più tardiva o extramidollare. Recentemente alcuni AA. consigliano di eseguire il trapianto in prima remissione in alcuni casi di LLA a prognosi particolarmente infausta, ossia nelle forme con globuli bianchi ≥ 200.000 alla diagnosi, con alterazioni cromosomiche, particolarmente con presenza di cromosoma $Ph^1$, con risposta tardiva alla terapia di induzione.

In tutti questi casi, se il paziente dispone di un donatore identico, è preferibile eseguire un trapianto di midollo allogenico. In caso contrario è consigliabile eseguire un trapianto di midollo autologo con purificazione (*purging*), aspirato durante la remissione completa e conservato.

Premessa per il successo è l'eradicazione delle cellule leucemiche, da ottenere con una terapia mieloablativa (condizionamento) che per lo più comprende ciclofosfamide e irradiazione corporea totale TBI (*Total Body Irradiation*) associati o meno a un secondo farmaco (vincristina, Ara-C o altro). Recentemente alcuni gruppi hanno sostituito l'uso della TBI con l'impiego di busulfano. I rischi maggiori del trapianto di midollo allogenico sono legati soprattutto alla maggiore immunodepressione indispensabile per favorire l'attecchimento e alla possibilità di sviluppare una reazione tipo «trapianto contro ospite» (*graft versus host disease*: GvHD) nel 40% dei casi. Tale reazione è tuttavia associata a un effetto antileucemico da parte delle cellule effettrici della GvHD (GvL). Il trapianto di midollo autologo è associato a minor tossicità, ma probabilmente il rischio di sviluppare una recidiva, legato a inoculo di cellule leucemiche con il midollo, è superiore. Tale evenienza è in parte limitata dalla «purificazione» *in vitro* del midollo autologo (*purging*). Globalmente si può prevedere una lunga sopravvivenza libera da malattia in almeno il 30% dei pazienti sottoposti a trapianto di midollo autologo o allogenico in seconda remissione completa e nel 50% dei pazienti «a cattiva prognosi» sottoposti a trapianto di midollo.

V. MIDOLLO OSSEO*, *trapianto*.

*Effetti collaterali e tardivi del trattamento antileucemico in età pediatrica*

Il miglioramento nella sopravvivenza della maggior parte delle neoplasie del bambino, osservato negli ultimi 20 anni, è dovuto essenzialmente all'introduzione di nuovi e più sofisticati mezzi terapeutici, all'affinamento delle terapie di supporto e all'adozione di protocolli cooperativi che hanno permesso di ottenere nuove informazioni su cui basarsi per modificare in meglio il trattamento.

Negli anni '50 un bambino con LLA aveva una prognosi quasi certamente infausta; la percentuale di soggetti guariti era episodica e si attestava intorno al 3%. Oggi la percentuale di sopravvivenza libera da malattia a 5 anni risulta variare dal 50 all'80% a seconda dei fattori prognostici e delle terapie impiegate. È stato calcolato che nelle nazioni a ottimo sviluppo socioeconomico e sanitario 1 ogni 2000 soggetti che avranno raggiunto dopo il 1990 l'età di 20 anni sarà un sopravvissuto di cancro.

Questi risultati sono stati ottenuti grazie a un atteggiamento via via più aggressivo nel tentativo di eradicare il clone leucemico e di impedire la sua localizzazione a livello dei «santuari della malattia» (S.N.C., gonadi, occhio). L'impiego della profilassi della meningosi leucemica con radioterapia cranica e/o con metotrexate intratecale ha contribuito in particolare a cambiare significativamente la prognosi della malattia. Una piccola percentuale di pazienti affetti da LLA ad alto rischio ottiene la lungosopravvivenza e una potenziale guarigione dopo trapianto di midollo allogenico o autologo praticato nella prima fase della terapia; inoltre si è reso oggi possibile il recupero di un numero considerevole di pazienti ricaduti.

La popolazione dei lungosopravviventi da LLA è perciò costituita per la maggior parte da soggetti fuori terapia in prima remissione completa e, in piccola misura, da soggetti lungosopravviventi dopo trapianto di midollo o dopo ricaduta trattata con successo.

Negli anni '70 e ancor più nel decennio attuale hanno cominciato a manifestarsi in un numero sempre maggiore di soggetti lungosopravviventi gli effetti collaterali tardivi del trattamento, i più gravi dei quali sono al momento imputabili alla radioterapia.

I principali danni tardivi riportati in letteratura riguardano: 1) S.N.C. (deficit intellettivi, leucoencefalopatia, alterazioni cerebrali strutturali diagnosticate alla T.A.C., convulsività); 2) crescita e assetto endocrino (deceleramento staturale, diminuzione della statura definitiva, ritardo puberale, adiposità, deficit di GH, ipotiroidismo); 3) fertilità (sterilità dopo irradiazione delle gonadi); 4) alterazioni cardiovascolari e di altri organi (cardiopatia da antraciclinici, deficit visivi per cataratta); 5) seconda neoplasia (malattie mielolinfoproliferative, tumori cerebrali, altri).

L'entità dei danni fisici e conseguentemente le loro ripercussioni sulla vita dei soggetti interessati dipendono da molti fattori; aumentano infatti il rischio di alterazioni gravi e irreversibili l'età al trattamento (< 2 anni), un trattamento protratto e/o ripetuto per recidive; dose totale e frazionamento dell'irradiazione sul S.N.C.; irradiazione di sedi extramidollari (gonadi, occhio), dosi cumulative e tipo di alcuni farmaci (alchilanti, antraciclinici), l'essere stati sottoposti a trapianto di midollo osseo.

La qualità di vita dei lungosopravviventi da l. è riportata essere in vario modo influenzata da quelle alterazioni psicosociali e familiari (gelosie nei fratelli, difficoltà di inserimento lavorativo, tendenza all'ansia e ad un vissuto di precarietà, peggioramento della situazione economica, etc.) determinate semplicemente dall'«evento cancro».

L'entità della popolazione italiana dei «soggetti fuori terapia» dopo trattamento per LLA del bambino può essere valutabile dai dati del Registro italiano fuori terapia (ROT), che ha riportato lo stato di salute e le sequele del trattamento in 383 casi di LLA trattati dal 1968 al 1980; il 74% di essi non presentava alcuna alterazione mentre nel 25% erano rilevabili danni principalmente a carico del S.N.C., dell'apparato endocrino e della crescita.

La nostra esperienza riguarda 57 soggetti trattati per LLA dal 1962 al 1982 valutati approfonditamente sotto i seguenti profili: crescita e apparato endocrino; aspetti psicologico, cardiologico, ortopedico, e immunologico. 41 di essi hanno dimostrato di condurre una vita normale senza esiti fisici della malattia e/o del trattamento; 16 presentavano invece qualche alterazione dimostratasi grave in 6 casi. Le alterazioni osservate sono riportate in ordine di frequenza nella tab. XV; 2 pazienti sono deceduti tardivamente per cardiomiopatia dilatativa da antraciclinici.





Digitized by Google

**TAB. XV. DANNI TARDIVI IN 57 LUNGOSOPRAVVIVENTI DA LLA**

| | N° | % |
|---|---|---|
| Deficit intellettivi (riduzione della memoria a breve termine) | 10 | 16 |
| Alterazioni cardiache subcliniche | 7 | 11 |
| Diminuzione della velocità di crescita | 4 | 6,4 |
| Cardiomiopatia dilatativa (*) | 2 | 3,2 |
| Cataratta/cecità monolaterale | 1 | — |
| Ritardo puberale | 1 | 1,6 |
| Amenorrea | 1 | 1,6 |
| Ipogonadismo primitivo | 1 | — |

(*) 2 decessi

La conoscenza della frequenza e gravità di tali effetti tardivi induce continuamente l'oncologo pediatra a migliorare gli schemi terapeutici, onde mantenere o aumentare le percentuali di sopravvivenza, limitando al massimo quelle complicanze che incidono negativamente sulla qualità di vita del bambino leucemico guarito. Molto è stato fatto in questo senso come, ad es., la diminuzione della dose di irradiazione e del prolungato uso degli antraciclinici.

Alcuni danni tardivi sono passibili di diagnosi precoce e di intervento terapeutico; affrontare questi problemi spetta al Centro oncologico specializzato che deve trovare collaborazione nella famiglia, nel medico curante e negli operatori scolastici e/o sociali, onde fornire una reale assistenza globale al paziente leucemico.

*L'ospedale di giorno*

L'organizzazione ospedaliera e in particolare quella che riguarda i reparti pediatrici necessita di una ristrutturazione che la modifichi sostanzialmente, perché possa realizzare una migliore qualità di assistenza ed evitare i cosiddetti «tempi morti» delle lunghe degenze.

Il reparto per il ricovero di giorno è uno dei cardini più importanti di questa organizzazione.

L'ospedalizzazione continua, e quindi anche notturna, dovrebbe essere consentita solo per quei malati per i quali essa è assolutamente necessaria, in quanto può essere erogata un'assistenza ottimale e completa nell'orario diurno dalle ore 7 alle 19 (o alle 21) per tutti quei malati che possono essere dimessi in serata e rientrare nell'ospedale nella mattina o nei giorni seguenti. Attualmente si può affermare che, se si escludono i pazienti con malattie infettive, o altre condizioni che necessitano di isolamento, i cardiopatici acuti, gli operati, i ricoverati nei Centri di rianimazione, nei Centri immaturi e in terapia intensiva in genere, i malati comunque in gravi condizioni, la maggior parte dei degenti oggi nelle corsie dei nostri ospedali potrebbe essere seguita in appositi reparti di ricovero di giorno, che debbono a questo scopo essere adattati o costruiti e che permetterebbero anche di risparmiare personale infermieristico (non più costretto a turni di notte, di fine settimana e festivi vari) e di ridurre notevolmente i costi della gestione globale.

Questo sistema oltre al risparmio economico, e alla riduzione del numero dei giorni di degenza, consentirebbe una maggiore efficienza sanitaria: pochi letti servono per un gran giro di ammalati.

Gli scopi dell'ospedale di giorno possono essere così riassunti: 1) poter riunire più esami precedentemente programmati in una sola giornata; 2) mantenere il malato nel suo ambiente e almeno parzialmente nelle sue attività evitando l'ospedalizzazione e diminuendo i disagi dei familiari, particolarmente per i genitori dei bambini malati; 3) riservare i letti di degenza continua ai malati acuti, gravi o che non possono farne a meno, offrendo loro una migliore e più efficiente assistenza.

Non tutti i pazienti hanno bisogno di restare a letto; i più, al contrario, trovano una migliore collocazione se sistemati su sedie a rotelle adattate per le infusioni a goccia a goccia, le quali possono essere trasportate nelle stanze di ricreazione.

Nella costruzione dell'ospedale o della divisione pediatrica, e quindi nella realizzazione di un reparto per ospedale di giorno, si debbono anche tenere presenti le varie esigenze del bambino e della sua famiglia: la stanza per la consultazione psicologica; un grande soggiorno dove possano essere sistemate le sedie a rotelle, la televisione, etc.; la stanza per giocare, con un teatrino, un cavalletto per il disegno, lavagne, sedie, cuscini, giochi e giocattoli vari; la sala da pranzo; l'aula scolastica.

Il personale deve essere in numero adeguato sia per quanto riguarda i medici che i paramedici. Per garantire un'assistenza efficiente è opportuno che venga inserito un personale paramedico, che oggi non ha ancora trovato nei reparti pediatrici la sua collocazione, quale l'animatrice (*play worker*), la terapista occupazionale, oltre all'assistente sociale (o sanitaria), lo psicologo, la segretaria-archivista.

Il gioco va incentivato e assistito al fine di permettere al bambino di manifestare la sua personalità in relazione alla malattia da cui è affetto, di liberarsi dell'aggressività e di interferire sulla situazione stressante della malattia con il meccanismo della compensazione.

Il laboratorio ematologico deve servire per tutti i malati assistiti nella Divisione ricoverati e ambulatoriali, dando così al medico, sia di corsia che di ambulatorio, la possibilità di seguire e conoscere personalmente la situazione ematologica dei suoi pazienti.

Da quanto sopra esposto risulta chiaro che nella Divisione di ematologia e oncologia pediatrica il bambino «degente» è quasi esclusivamente un malato grave, che necessita di un'assistenza specialistica intensiva, anche se le sue condizioni generali non sono necessariamente precarie. È bene che non vengano costruite corsie ma solo stanze per bambino e madre (o altro familiare). In questo modo il contagio, sia per le malattie esantematiche che per le altre infezioni, viene più facilmente limitato e circoscritto. D'altro canto questa disposizione esige un maggior numero di personale infermieristico, non solo per i ben noti scopi assistenziali, ma anche per la sorveglianza.

*Aspetti psicologici*

La diagnosi di l. acuta induce nei genitori e in tutto il gruppo familiare del bambino malato una situazione emotiva nuova che va seguita, analizzata e aiutata.

È una prova durissima, continua, spesso estenuante, che si prolunga di anno in anno. La parola «speranza» deve essere alla base del discorso con cui il medico spiegherà ai genitori la natura della malattia che ha colpito il loro bambino. La spiegazione deve essere chiara e razionale per ottenere la massima cooperazione dei parenti e per mezzo loro dello stesso bambino. L'aiuto psicologico deve riguardare particolarmente l'atteggiamento verso il bambino malato, gli eventuali altri figli, l'ambiente familiare e quello ospedaliero. La presenza del medico e dello psicologo rende possibile l'osservazione continua degli aspetti comportamentali e dinamici del leucemico con tutte le problematiche particolari legate alla malattia.



Digitized by Google

Uno studio condotto per oltre 20 anni nella nostra Divisione su circa 1000 pazienti affetti da malattie neoplastiche maligne, con controlli ripetuti di esami psicologici riguardanti le reazioni, le attitudini e le risposte del bambino verso la malattia, verso il personale medico e paramedico, e verso la sua famiglia ci ha permesso di fare alcune osservazioni. La malattia si inserisce nel rapporto tra il bambino e i suoi genitori e può indurre uno stato emotivo particolare, fino all'angoscia. Nella dinamica familiare lo stress emozionale alla diagnosi può modificare il comportamento dei genitori in modo tale che, di fronte allo stato di confusione e di ansietà, le difese dei bambini si indeboliscono gravemente.

È opportuno, nell'intento di minimizzare la situazione emotiva, tenere regolari riunioni di gruppo dei familiari.

L'aiuto psicoterapeutico riesce a ridurre lo stato di ansia e a migliorare la dinamica familiare diminuendo le ripercussioni negative presenti anche verso gli altri figli. Lo psicologo deve inoltre stabilire un rapporto con il personale medico e paramedico, in modo da potersi inserire in ogni situazione critica e in particolare quando si prevede la morte del bambino. Questo supporto psicologico aiuta i genitori emotivamente fragili a esprimersi e a liberarsi delle reazioni aggressive legate a sentimenti di colpa e di responsabilità esagerata.

**Bibliografia**


Aur R. J. A., Simone J. V. *et al.*, *Blood*, 1971, **37**, 271.
Bernard J., *Nouv. Rev. Fr. Hematol.*, 1973, **13**, 145.
Bleyer W. A., Poplack D. G., *Semin. Oncol.*, 1985, **12**, 131.
Crist W. M., Grossa C. E. *et al.*, *Semin. Oncol.*, 1985, **12**, 105.
D'Angio G. J., *Cancer*, 1978, **42**, 1015-1025.
Felix C. A., Wright J. J. *et al.*, *J. Clin. Invest.*, 1987, **80**, 545.
Fernbach D. J., George S. L. *et al.*, *Cancer*, 1975, **36**, 1552.
Gratwohl A., Gahrton C., *Acta Oncol.*, 1988, **27**, 557.
Greaves M. F., Janossy G. *et al.*, *Br. J. Haematol.*, 1981, **48**, 179.
Jacquillat Cl., Weil M., Boiron M., *La methode de reinduction dans le traitement des leucemies aigues*, in *Actualités Hematologiques*, 1968, X serie, Masson, Paris, p. 12.
Knudson A. G., Strong L. C., *Am. J. Hum. Gen.*, 1972, **24**, 514.
Look A. T., *Semin. Oncol.*, 1985, **12**, 92.
Massimo L., *La terapia delle leucemie dell'infanzia*, in Baserga A. ed., *Le leucemie*, 1972, PEM, Roma, p. 909.
Massimo L., Comelli A., *22ª Sett. Mediche Osped., Roma, 22-25 Apr. 1977.*
Massimo L. *et al.*, in Poplack D. G., Massimo L., Cornaglia Ferraris P. eds., *The Role of Pharmacology in Pediatric Oncology*, 1987, Martinus Nijoff Publ., Boston, 217.
Meadows A. T. *et al.*, in *Status of the Curability of Childhood Cancers*, Van Eys J., Sullivan M. P. eds., 1980, Raven Press N. Y.
Pavlowsky S. *et al.*, *Cancer*, 1973, **31**, 273.
Pinkel D., *Pediatr. Clin. North Am.*, 1976, **23**, 117.
Riehm H. *et al.*, *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, 1987, **6**, 162.
Senesi E. *et al.*, *Haematologica*, 1988, **73**, 303-308.
Simone J. V., *Br. J. Haematol.*, 1976, **32**, 465.
Spiers A. S. D., Roberts P. D. *et al.*, *Br. Med. J.*, 1975, **4**, 614.
Siass S., Murri J., *Clin. Haematol.*, 1976, **32**, 465.
Willoughby M. L. N., *Paediatric Haematology*, 1977, Churchill Livingstone, Edinburgh.


LUISA MASSIMO E ADELE COMELLI

## LEUCEMIA ACUTA NON-LINFOBLASTICA DELL'INFANZIA (VIII, 1574)

**Introduzione**

Il termine l. acuta non-linfoblastica [LAnL] comprende tutte le forme leucemiche acute che interessano gli stipiti cellulari non linfoidi, cioè la serie mieloide, monocitica, eritroide e megacariocitica.

Nel bambino essa rappresenta una quota relativamente modesta della totalità delle l. acute [LA], con una percentuale che varia a seconda degli AA. dal 10 al 32%; la sua frequenza nella popolazione pediatrica nordamericana è di 1 caso su 200.000/anno. Per quanto riguarda la corrispondente popolazione italiana, pur mancando statistiche nazionali in merito, si può ritenere che la LAnL colpisca *ex novo* circa 100 bambini all'anno.

La distribuzione per età dimostra un picco discreto nel 1° e 2° anno di vita, e un'incidenza crescente a partire dall'11° anno.

I due sessi sono colpiti con frequenza pressoché uguale, anche se esistono segnalazioni di un maggior interessamento del sesso maschile nella l. monocitica acuta [LMoA] e nella l. mieloblastica acuta [LMA].

La sintomatologia clinica della LAnL si differenzia di poco da quella della l. linfatica acuta [LLA]. La malattia si manifesta infatti quasi sempre con sintomi aspecifici (febbre, astenia, pallore); il quadro clinico può essere paucisintomatico con segni fisici scarsissimi, o, all'opposto, manifestare un'obiettività clamorosa, quali adenopatie vistosissime. Nella LAnL si possono inoltre ritrovare alcuni aspetti peculiari: infiltrazione gengivale, più frequente nella l. mielomonocitica e nella LMoA, presenza di noduli leucemici cutanei nei bambini più piccoli, diatesi emorragica imponente nella l. promielocitica acuta [LPA].

I quadri ematologico e midollare non si differenziano da quelli descritti per le l. acute non-linfoblastiche dell'adulto.

La prognosi della l. mieloide acuta del bambino è migliorata in maniera significativa nell'ultimo decennio. L'intensificazione dei protocolli di chemioterapia e il progressivo miglioramento della terapia collaterale di supporto, hanno consentito di ottenere la remissione completa (RC) in oltre il 70% dei bambini trattati e lunghe sopravvivenze libere da malattia nel 30-50% dei rispondenti.

**Terapia**

*Esperienze passate*

Durante gli anni settanta la maggior parte degli AA. riportava percentuali di RC intorno al 50-60%, utilizzando programmi di terapia di induzione basati sull'associazione di più farmaci comprendenti la citosina arabinoside (Ara-C) e un derivato antraciclinico (daunomicina, adriamicina). Una volta ottenuta la RC, i bambini venivano sottoposti a un trattamento postremissione di durata variabile da 2 a 5 anni, con schemi di polichemioterapia ciclica a base prevalentemente di Ara-C, tioguanina (TG) e un antraciclinico associati o meno ad altri farmaci (vincristina, ciclofosfamide, etc.). Questa fase di terapia veniva in genere condotta con criteri di tipo conservativo con lo scopo primario di salvaguardare il paziente dai rischi legati a una eccessiva mielodepressione. Con una simile strategia terapeutica, la possibilità di lunga sopravvivenza libera da malattia si otteneva in circa il 10-30% dei bambini rispondenti (tab. XVI).

La resistenza primaria alla terapia e soprattutto la reci-

**TAB. XVI. LAnL DEL BAMBINO: RISULTATI TERAPEUTICI (1970-1980)**

| Autore | N. pazienti | % RC | % Lungo-sopravvivenza in RC |
|---|---|---|---|
| Choi-Simone (1976) | 86 | 66 | 7 |
| Chard *et al.* (1978) | 163 | 59 | 28 |
| Madanat-Sullivan (1979) | 43 | 51 | 32 |
| Baehner *et al.* (1979) | 163 | 72 | 30 |
| Amadori *et al.* (1981) | 73 | 63 | 10 |
| Dahl *et al.* (1982) | 95 | 72 | 29 |
| Chessells *et al.* (1983) | 158 | 66 | 20 |





Digitized by Google

diva della l. rappresentavano, insieme alla mortalità per complicanze infettive e/o emorragiche, il motivo principale di insuccesso della terapia.

*Stato attuale*

Verso la fine degli anni '70 strategie terapeutiche diverse, caratterizzate fondamentalmente da una maggiore aggressività globale del trattamento, sono state proposte da numerosi AA., allo scopo di poter ottenere una più profonda citoriduzione della popolazione leucemica, così da diminuire in modo significativo le probabilità di emergenza e sviluppo di cloni leucemici chemioresistenti, responsabili dell'evento recidiva (tab. XVII).

Uno dei primi esempi di tale orientamento terapeutico è stato rappresentato dal protocollo VAPA del Dana-Farber Cancer Institute che prevedeva, dopo una fase di induzione aggressiva con vincristina, adriamicina, Ara-C e prednisone, una chemioterapia intensiva post-remissione basata sull'impiego sequenziale di combinazioni non crossresistenti di farmaci attivi a dosi mieloaplastizzanti. Con tale programma terapeutico sono stati ottenuti risultati di estremo interesse: una probabilità di RC del 74% in un gruppo di 61 bambini, con una sopravvivenza libera da malattia a 4 anni del 50%.

Questi risultati venivano sostanzialmente confermati in uno studio successivo (80-035) che prevedeva, rispetto al protocollo VAPA, l'impiego nella fase di induzione di due soli farmaci (Ara-C e daunomicina) e l'inserimento di una chemioprofilassi del S.N.C., allo scopo di prevenire la recidiva meningea particolarmente frequente nella varietà monocitica.

Risultati comparabili sono stati ottenuti nel nostro paese dallo studio multicentrico AIEOP (Associazione Italiana di Ematologia ed Oncologia Pediatrica), attivato nel 1982 e chiuso nel 1987.

Obiettivi principali di tale studio (AIEOP/LAM 8204) erano:

1) incrementare la proporzione di bambini lungosopravviventi in remissione mediante l'impiego di un programma di chemioterapia intensiva di induzione e postremissione;

2) prevenire la comparsa della recidiva leucemica a livello neuromeningeo mediante somministrazione periodica di Ara-C intratecale.

Globalmente, su 171 bambini osservati in 22 Istituzioni oncoematologiche pediatriche, 141 hanno ottenuto la remissione completa (82%). Di questi, il 38% è proiettato vivo in remissione completa continua a distanza di 6 anni (fig. 27). Una prognosi significativamente peggiore appare associata con la presenza di spiccata iperleucocitosi all'esordio e con la varietà monocitica acuta.

*Prospettive future*

Nonostante i progressi realizzati negli ultimi anni nel trattamento della LAnL del bambino, i risultati attuali non possono essere considerati soddisfacenti, dato che ancora oggi più della metà dei pazienti trattati non raggiunge l'obiettivo primario della guarigione definitiva. Causa principale dell'insuccesso della terapia rimane la recidiva leucemica. Di qui l'esigenza di rendere sempre più aggressiva ed eradicante la terapia antileucemica, possibilità questa concretamente realizzabile in un prossimo futuro su ampia scala grazie ai continui progressi nel campo della terapia collaterale di supporto, soprattutto di tipo antinfettivo e antiemorragico.

Nell'ottica di una ulteriore intensificazione dei trattamenti di induzione e di consolidamento, da parte di numerosi AA. viene proposto l'impiego dei nuovi farmaci particolarmente attivi nella LAnL quali m-AMSA, mitoxantrone, nuovi derivati antraciclinici a più elevato indice terapeutico (idarubicina) in associazione con la Ara-C utilizzata ad alte dosi. Come già detto, l'obiettivo primario di questi trattamenti particolarmente aggressivi è quello di operare una rapida e profonda citoriduzione della massa leucemica così da ridurre al minimo la probabilità di emergenza di cloni resistenti. A questo proposito il trapianto di midollo osseo allogenico, eseguito precocemente in fase di RC, può essere considerato come la modalità la più intensiva possibile di terapia postremissione. L'efficacia terapeutica di un tale approccio è testimoniata da dati recenti della letteratura che dimostrano come nei pazienti trapiantati in prima RC le probabilità di recidiva a 3 anni siano intorno al 25%. La utilizzazione sistematica dell'allotrapianto di midollo è però fortemente limitata dalla disponibilità di un donatore HLA identico, eventualità che si verifica solo nel 25-30% dei casi, e dai rischi tuttora molto elevati di complicanze legate a tale procedura terapeutica (GvHD, polmonite interstiziale). Una possibile alternativa al trapianto di midollo osseo allogenico è rappresentata dall'impiego di trattamenti chemioradioterapici di tipo ablativo seguiti dalla reinfusione di midollo osseo criopreservato, prelevato in fase di RC. Dati preliminari sembrano indicare che l'autotrapianto di midollo possa essere utile nel ridurre il rischio di recidiva di pazienti con LAnL in RC.

Sulla base di tali considerazioni il Gruppo Cooperativo AIEOP ha recentemente attivato un nuovo protocollo te-

**TAB. XVII. LAnL DEL BAMBINO: RISULTATI TERAPEUTICI (1980-1988)**

| Gruppo | Protocollo | N. pazienti | % RC | % Lungo-sopravvivenza in RC |
|---|---|---|---|---|
| Dana-Farber | VAPA | 61 | 74 | 50 |
| | 80-035 | 64 | 70 | 40 |
| St. Jude | AML-80 | 84 | 76 | 35 |
| | AML-83 | 53 | 85 | 69 (2 a.) |
| BFM | BFM-78 | 151 | 80 | 48 |
| | BFM-83 | 173 | 70 | 62 |
| POG | DAT | 175 | 85 | 43 |
| UK | AML-82/85 | 98 | 84 | 38 |
| AIEOP | LAM 8204 | 171 | 82 | 38 |

Fig. 27. Associazione Italiana di Ematologia e Oncologia Pediatrica (AIEOP): curva di durata della remissione completa della l. acuta mieloblastica.





Digitized by Google

rapeutico per il trattamento della LAnL del bambino (protocollo LAM 87) il cui obiettivo principale è quello di valutare, in uno studio randomizzato, efficacia terapeutica e tossicità di una chemioterapia postremissione di tipo ablativo con *rescue* midollare autologo nei confronti di un trattamento convenzionale di consolidamento della RC.

**Bibliografia**

Amadori S., Petti M. C., Pacilli L. *et al.*, *Tumori*, 1981, **67**, 209-214.
Amadori S., Ceci A., Comelli A. *et al.*, *J. Clin. Oncol.*, 1987, **5**, 1356-1363.
Chessells J. M., *Clinics Haematol.*, 1986, **15**, 727-753.
Chessells J. M., Sieff C. A., Rankin A., *Haemat. Blood Transfusion*, 1983, **28**, 51-55.
Creutzig U., Ritter J., Riehm H. *et al.*, *Blood*, 1985, **65**, 298-304.
Dahl G. V., Kalwinsky D. K., Murphy S. *et al.*, Blood, 1982, **60**, 856-863.
Gale R. P., *Ann. Intern. Med.*, 1985, **101**, 702-705.
Santos G. W., *Cancer*, 1984, **54**, 2732-2740.
Weinstein H. J., Mayer R. J., Rosenthal D. S. *et al.*, *Blood*, 1983, **62**, 315-319.
Yeager A. M., Kaizer H., Santos G. W. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1986, **315**, 141-147.

SERGIO AMADORI E BRUNO DE BERNARDI

## LEUCEMIA MIELOIDE CRONICA

**Eterogeneità delle alterazioni citogenetiche e biomolecolari della leucemia mieloide cronica e molteplicità delle sue espressioni cliniche**

La leucemia mieloide cronica (LMC) è un processo clonale acquisito di ignota etiologia, dovuto a mutazione somatica di una cellula staminale capace di molteplici orientamenti differenziativi: la popolazione cellulare neoplastica che ne deriva evolve prevalentemente lungo la linea differenziativa granulocitica neutrofila pur coinvolgendo sempre anche le linee granulocitiche eosinofila e basofila, ma usualmente sono interessate pure le linee eritroide, monocitica e megacariocitica; possibile è l'interessamento associato della linea linfoide B, eccezionale quello della T.

Il processo leucemico proprio della LMC si sviluppa verosimilmente nell'arco di più di 10 anni: è il lasso di tempo che il clone cellulare derivato dalla cellula staminale originariamente trasformata impiega per raggiungere una massa di tale entità da dare di sé segni clinicamente apprezzabili. Distinguiamo pertanto nella *storia naturale* della malattia una lunga *«fase preleucemica»* seguita da una fase *«preclinica»* (*lowe percentage leukemia*) che evolve dopo 15-19 mesi nella *«fase clinica»*, inizialmente anch'essa quasi asintomatica (*minimal deviation tumor*) e poi caratterizzata da un decorso cronico paucisintomatico (*«fase florida»*) che alla fine, dopo 2-5 anni, sfocia di solito in un *quadro leucemico acuto*; lo stato terminale può tuttavia essere anche quello di una cachessia irreversibile associata a grave anemia ed a piastrinopenia. Nei 2/3 dei casi la fase acuta è caratterizzata dalla presenza di eterogenei cloni cellulari ad orientamento mieloide (*«tipo M»*) per lo più chiaramente granuloblastico e con citotipo che richiama i subtipi M1, M2, M3, M4 della classificazione FAB delle leucemie acute, a volte — ma molto più raramente — di tipo monoblastico (M5) o eritroide (M6) o megacarioblastico (M7). Nel 15-20% dei casi si riscontrano invece nella fase acuta cellule morfologicamente e fenotipicamente linfoidi (*«tipo L»*), di sottotipo *null* o *common*, raramente B maturo o T. Esistono anche forme miste, «M» + «L», sequenziali o bifenotipiche.

Il passaggio dalla fase cronica a quella acuta può avvenire in maniera brusca e repentina (*«crisi blastica»*) oppure più graduale (*«trasformazione blastica»*, TB) attraverso uno stadio intermedio dai caratteri mal definibili (*«fase accelerata»*). La trasformazione blastica può manifestarsi in forma generalizzata (midollare) *d'emblée* o essere all'inizio localizzata in un solo distretto (splenico, linfonodale) con i caratteri di un sarcoma granulocitico (*mieloblastoma*) e generalizzarsi (soprattutto in ambito midollare) solo in un secondo tempo, anche a distanza di mesi.

Tipicamente la trasformazione blastica è un *evento terminale*, ma talora costituisce la prima manifestazione clinico-ematologica della malattia (*trasformazione blastica iniziale*), con espressioni citologiche ora mieloidi ora linfoidi. Vi sono casi complessi con trasformazione blastica iniziale e poi anche terminale, talora citologicamente diverse (mieloide, linfoide) con fase intermedia di LMC florida. Clinicamente la trasformazione blastica ricorda le leucemie acute mieloidi o linfoidi, di cui può ripetere anche eventi particolari quali la meningopatia leucemica.

L'evoluzione clinica bi- o trifasica della malattia (fase cronica, accelerata, blastica) riflette la sua *patogenesi multistadio*. Le diversità che si riscontrano nella citologia e nella cronologia della trasformazione blastica sono a loro volta espressione dei diversi livelli differenziativi in cui il compartimento staminale può essere colpito.

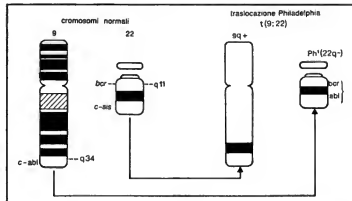



Fig. 28. Eventi citogenetici e molecolari associati alla traslocazione Philadelphia (cfr. testo). (*Da Torelli G., in Torelli U. et al., Biologia molecolare delle leucemie e dei linfomi, 1989, USES Firenze*).





Digitized by Google

Il *processo molecolare* che sembra essere cruciale per la *patogenesi* della LMC (anche se probabilmente non ne costituisce l'evento primitivo) è la formazione di un cromosoma 22 anomalo (22q−) indicato come *cromosoma Philadelphia*, Ph[1] (Noxell e Hungerford, 1960). L'anomalia è stata osservata in più del 90% dei casi di LMC. Il Ph[1] è caratterizzato dalla traslocazione reciproca bilanciata di materiale genico tra le braccia lunghe dei cromosomi 9 e 22 t(9; 22) (q34; q11) (Bartram *et al.*, 1983): ciò comporta il trasferimento dell'oncogène *c-abl* dal cromosoma 9 al 22 e quello dell'oncogène *c-sis* dal 22 al 9 (Prakash e Yunis, 1984) (fig. 28) e la formazione sul cromosoma 22q− di un gene di fusione chimerico *brc-abl* che codifica la sintesi di una proteina fosforilata (210 kd) con attività tirosinochinasica.

L'oncogène *c-abl* è l'omologo cellulare umano dell'oncogène trasformante dell'*Abelson murine leukemia virus* (A-MuLV) ed è localizzato sul cromosoma 9, banda q34. Il gene *abl* occupa sul genoma almeno 240 kb; è costituito da un gruppo di esoni 3' terminali omologhi a *v-abl* (cosiddetti esoni del corpo comune di *abl*, che occupano sul genoma circa 40 kb) e da due esoni 5' terminali (Ia e Ib) separati da un gigantesco introne (175 kb). L'estremità 5' terminale di *c-abl* è orientata verso il centromero e quella 3' verso il telomero. Il *c-abl* normale trascrive due mRNA di diversa lunghezza (6 e 7 kb) e codifica nelle cellule umane una proteina di 145 kd (p145) avente un solo maggior sito di autofosforilazione: la p145 non sembra essere fosforilata *in vivo* mentre può esserlo *in vitro* ed esplica allora evidente attività tirosinochinasica.

L'oncogène *c-sis*, omologo cellulare umano dell'oncogène trasformante del *Simian Sarcoma Virus* (SSV), è localizzato sul cromosoma 22 nella regione q12.3-q13.1, ben distante quindi dalla regione q11 che vedremo essere il punto di rottura del cromosoma 22 nella LMC Ph[1]+. Il *c-sis* è il gene strutturale codificante per la catena del *platelet derived growth factor* (PDGF), che sembra esplicare un effetto mitogenetico su cellule ematiche.

Nella traslocazione t(9; 22) la sede di rottura in entrambi i cromosomi non è identica in tutti i casi, ma nel complesso avviene in tratti ben definiti del rispettivo genoma (per più ampi particolari, v. sopra col. 4538). Mentre si ammette che la traslocazione di *abl* sul cromosoma 22 e la formazione del gene di fusione *bcr-abl* abbia indubbia importanza nella patogenesi della LMC, la traslocazione del *c-sis* sul cromosoma 9 non sembra rivestire particolare significato. Nella LMC Ph[1]+ la struttura genomica del *c-sis* non presenta riarrangiamenti né amplificazione e la qualità di espressione del trascritto di 4 kb è normale (Torelli G., 1989).

Il modello di eventi molecolari ora descritto non è però l'unico rinvenibile nella LMC ed alla situazione molecolare tipica della LMC si può giungere attraverso modificazioni cromosomiche diverse da quelle che portano alla formazione del classico Ph[1]. Si conoscono più di 300 *varianti della traslocazione Ph[1]* (De Braekeleer, 1987), rintracciabili complessivamente in circa l'8% dei casi di LMC, con significative diversità d'ordine geografico (sono infatti più rare in Giappone che in Occidente) ed etnico (in U.S.A. sono più frequenti nei negri che nei bianchi).

Le varianti della traslocazione Ph[1] sono classificate come semplici o complesse: *varianti semplici* sono quelle caratterizzate solo da traslocazione del segmento deleto del n. 22 su un cromosoma diverso dal 9. Alcuni AA. dubitano che ne esistano realmente. Assai più frequenti sembrano essere le *varianti complesse*: qui hanno luogo scambi fra tre o più cromosomi, uno dei quali è sempre il 22 e un altro è quasi sempre il 9: ad es. t(9; 11; 22) (q34; q13; q11). I segmenti possono essere scambiati in modi diversi soprattutto sui cromosomi 8,11, 12,Y: in un caso sia il 5' terminale di *bcr* del 22 che l'*abl* del 9 erano trasportati sul cromosoma n. 12. Sono noti pure casi in cui nello stesso paziente coesistono la traslocazione Ph[1] standard e una delle sue varianti. Da più AA. si prospetta che in traslocazioni varianti complesse le bande 9q34 e 22q11 siano sempre coinvolte, anche quando tali non figurino palesemente.

Se l'interscambio non è morfologicamente apprezzabile ma può essere accertato con indagini biomolecolari che comprovano la formazione del gene chimerico *bcr/abl*, si parla di *cromosoma Ph[1] mascherato*.

Esistono poi casi, non frequenti (~ 10%), con quadro clinico-ematologico analogo a quello della LMC, in cui non è possibile riconoscere il cromosoma Ph[1], né con indagini citogenetiche né biomolecolari: il *c-abl* non è traslocato sul cromosoma 22 in regione *bcr* e il *c-sis* permane sul n. 22. Tali *LMC Ph[1] negative* sono certamente eterogenee.

Alcuni di tali casi non sono distinguibili dalla classica LMC per reperti clinico-ematologici e per il decorso; altri casi Ph[1] negativi — riscontrabili soprattutto in soggetti molto giovani (*LMC tipo giovanile*, JCML) o assai anziani — si discostano dal comune cliché della LMC per l'esistenza di piastrinopenia spiccata, per la minore entità della leucocitosi e per il decorso più breve (in genere solo 8-20 mesi). Per alcuni AA. la JCML sarebbe in realtà un disordine della linea monocitica.

Sono noti casi che all'esordio presentano cariotipo normale ma che successivamente (nel 30% dei casi) in fase di trasformazione blastica palesano le stesse anomalie clonali che si rinvengono nella trasformazione blastica della LMC Ph[1] positiva e possono anche dar luogo a trasformazione blastica linfoide. È pure possibile che casi Ph[1] negativi all'esordio presentino traslocazione Ph[1] in momenti successivi e dopo vari lassi di tempo: si può pensare che una mutazione primitiva diversa dal Ph[1] — nell'ambito di un processo multistadio — porti di per sé ad una trasformazione clonale e ad una condizione di instabilità genetica a livello staminale multipotente, nel cui ambito si forma in via secondaria un clone Ph[1] dotato di vantaggio proliferativo sugli altri cloni cellulari. In altri casi ancora si può ipotizzare che si tratti in effetti di processi mieloproliferativi mielodisplastici diversi dalla LMC e vicini alla leucemia cronica mielomonocitica. Nel complesso le LMC Ph[1] negative mostrano mortalità annuale relativamente costante (circa 43%) e sopravvivenza mediana di 13 mesi.

La metamorfosi della LMC classica Ph[1] positiva da una fase cronica relativamente benigna ad una fase acuta a decorso fatale è verosimilmente in rapporto alla comparsa di nuovi cloni cellulari aventi caratteristiche biologiche diverse e contrassegnate in primo luogo dalla perdita più o meno completa della capacità di evolvere fino agli stadi maturi. È noto che sia pure con scarsa frequenza (< 20%) già nella fase cronica «florida» possono emergere, ed eventualmente poi scomparire, cloni citogeneticamente anormali: ciò è espressione di una origine casuale (*random*) di cloni maligni con cariotipo instabile. Tali eventi tendono a diventare successivamente più frequenti e soprattutto nella fase accelerata alcuni cloni tendono a diventare fissi. Non è insolito che le anomalie *random* del cariotipo si riscontrino più precocemente nei territori di colonizzazione leucemica extramidollare (milza, linfonodi) che nel midollo osseo.

Mentre meno del 20% dei casi di LMC Ph[1] positiva florida mostra *anomalie addizionali del cariotipo*, queste sono presenti in circa l'80% dei casi di trasformazione blastica conclamata: sono note situazioni iper- o ipo-diploidi, è frequente un doppio Ph[1] (+Ph[1]), meno spesso si rinvengono trisomia 8 (+8) e 19 (+19), presenza di un isocromosoma 17 [i(17q)], perdita del cromosoma Y (−Y). Raro è il coinvolgimento del cromosoma 21, come in t(11; 21) (q13; q22).

*Alcune di tali anomalie appaiono correlate* (anche se non rigorosamente) *al tipo di decorso della malattia e/o al tipo citologico della trasformazione blastica.* L'iperdiploidia (numero modale di 48 o più cromosomi) comporta prognosi particolarmente severa, l'ipodiploidia una prognosi più favorevole. La trasformazione blastica promielocitica è spesso congiunta a t(15; 17) (tipica della forma leucemica acuta M3 *de novo*) oppure a t(2; 8) o a i(17q); quella eritroide a iperdiploidia (> 50), ad anomalie multiple, a





Digitized by Google

+Ph[1], a +8; la trasformazione blastica megacarioblastica è contraddistinta spesso da inv(3) (q21; q34), da +Ph[1], da +8. La trasformazione blastica linfoide, caratterizzata prevalentemente dallo sviluppo di un clone linfocitico di tipo *common* (cALLA+, cμ+, sIg neg.), mostra nel 10-50% dei casi anomalie addizionali del cariotipo, pseudo- o ipo-diploidia (talora iperdiploidia), +Ph[1], −Y, raramente +8 o +19. Nessuna anomalia cromosomica addizionale specifica distingue la forma mieloide da quella linfoide della trasformazione blastica (v. sopra *leucemie acute*).

Queste pur importanti acquisizioni non consentono tuttavia di interpretare il meccanismo con cui la popolazione neoplastica della LMC raggiunge una massa 10 o più volte superiore alla normale massa mieloide, di cui solo una parte (per lo più modesta) è derivata da precursori staminali Ph[1] negativi persistenti nel leucemico (mosaicismo).

Strife e Clarkson (1988) sostengono che il *difetto biologico primario della LMC*, da cui discende l'aumento della massa cellulare mieloide, non risiede in una espansione del compartimento staminale CFU-GM né in una sua proliferazione sregolata, ma piuttosto in una «*maturazione discorde*». Mentre i precursori leucemici precoci avrebbero un potenziale proliferativo assai limitato e soggetto ai normali meccanismi di regolazione, l'asincrona maturazione nucleo/citoplasmatica, nota da tempo e confermata anche da recenti reperti ultrastrutturali, favorirebbe un maggiore afflusso di cellule dotate di elevata capacità proliferativa (in virtù della immaturità del nucleo) in compartimenti maturativi più avanzati, a lunga vita, con prolungati tempi di circolo, incompletamente soggetti ai normali meccanismi di regolazione (anche se non del tutto autonomi): da ciò il maggiore numero di divisioni mitotiche in cellule relativamente mature, l'incremento globale della massa di cellule mieloidi in fase promielo-mielocitica, l'incompleta maturazione cellulare conseguente all'accorciamento del tempo di accumulo midollare postmitotico: la *deficienza maturativa e funzionale dei granulociti della LMC* è palesata dalla bassa concentrazione citoplasmatica di fosfatasi alcaline, di lattoferrina e di lisozima, dalla ritardata migrazione in distretti extravasali, dalla minore capacità fagocitaria e battericida. Ad un disordine differenziativo/maturativo in seno alle linee staminali già commissionate potrebbe essere ascritta la presenza nella stessa cellula di granuli eosinofili e basofili (*lineage infidelity, lineage confusion*).

**Stadiazione e prognosi della leucemia mieloide cronica**

La LMC ha un *decorso* variabile da caso a caso ma nel complesso vi si possono identificare tre *stadi* fondamentali (cronico, accelerato, blastico) non obbligatoriamente posti in questa precisa sequenza temporale (v. sopra, capitolo precedente). Tali stadi non sono rigidamente separabili in base a reperti clinico-ematologici o biologici, valutabili in senso quantitativo, ma formano uno spettro continuo di eventi in genere progressivamente peggiorativi, dai confini sfumati.

I segni più indicativi della fase accelerata e della trasformazione blastica sono riportati nella tab. XVIII.

Soprattutto l'avviamento alla fase accelerata può essere riconosciuto spesso solo con approssimazione e retrospettivamente. La fase accelerata evolve talora rapidamente (pochi mesi) in una trasformazione blastica conclamata, altre volte decorre più lentamente anche se attraverso complicanze di vario ordine; frequentemente non è suscettibile di alcun efficace controllo terapeutico.

Variabile da caso a caso è pure la *durata* della malattia leucemica ed è difficile identificare a priori i soggetti destinati ad essere a lungo sopravviventi e quelli che invece andranno incontro a morte precoce. Nell'insieme la popolazione affetta da LMC presenta un *pattern di sopravvivenza* caratteristico: all'inizio il tasso di mortalità è basso, aumenta gradualmente durante i primi due anni successivi alla diagnosi (6% nel primo, 17% nel secondo) e raggiunge un livello stabile durante il terzo anno. Se si dispongono su carta semilogaritmica i valori della sopravvivenza corrispondenti ad una vasta casistica di LMC Ph[1] positiva, si vede infatti chiaramente che dopo il secondo anno l'andamento diventa lineare, il che è indice di un rischio costante di morte (approssimativamente 25% per anno): la sopravvivenza mediana si aggira sui 43 mesi, con insorgenza randomizzata dell'evento finale (trasformazione blastica) indipendentemente dalla terapia effettuata (Sokal *et al.*, 1988).

Non è facile pertanto formulare la *prognosi* circa la durata di sopravvivenza dei soggetti affetti da LMC. Sei eventi sembrano essere associati ad una prognosi più severa: splenomegalia cospicua (polo inferiore a più di 15 cm sotto l'arco costale), epatomegalia (margine inferiore a più

**TAB. XVIII. SEGNI CLINICI E REPERTI LABORATORISTICI INDICATIVI DELLA FASE ACCELERATA E DELLA TRASFORMAZIONE BLASTICA DELLA LEUCEMIA MIELOIDE CRONICA (LMC)**

(Criteri proposti da Sokal *et al.*, *Blood*, 1984, **63**, 789)

| Parametri | Fase accelerata | Trasformazione blastica |
|---|---|---|
| Blasti nel sangue periferico (s.p.) e nel midollo osseo (m.o.) | > 5% | > 20% (o blasti + promielociti 30% nel sangue periferico o > 50% nel m.o. oppure infiltrati blastici extramidollari o masse tumorali leucemiche) |
| Basociti | > 20% | > 20% |
| Polimorfonucleati tipo Pelgher, eritroblasti, frammenti di megacariociti nel sangue periferico. | frequenti | frequenti |
| Anomalie aggiuntive del cariotipo | frequenti | frequenti |
| Anemia e piastrinopenia | frequenti | frequenti |
| Spiccata piastrinosi malgrado adeguata terapia citostatica | possibile | insolita |
| Aumento volumetrico della milza | cospicuo poco sensibile alla terapia | frequente |
| Tempo di raddoppio dei leucociti nel sangue periferico | < 5 giorni | |
| Febbre di origine non individuabile | frequente | costante |





Digitized by Google

di 6 cm sotto l'arco costale), piastrinopenia ($< 150 \times 10^9$/l) o piastrinosi rilevante ($> 500 \times 10^9$/l), leucocitosi notevole ($> 100 \times 10^9$/l), concentrazione di precursori agranulati nel sangue periferico superiore all'1% e concentrazione di precursori granulosi nel sangue periferico superiore al 20%. In base al numero dei fattori negativi riscontrati all'esordio i pazienti possono essere ripartiti in tre categorie (gruppo I: 0-1 fattori; gruppo II: 2-3 fattori; gruppo III: 4-6 fattori) che presentano sopravvivenza mediana diversa (I: 68 mesi; II: 46 mesi; III: 28 mesi) (Tura *et al.*, 1980).

Il peso prognostico di alcuni di tali parametri (dimensioni del fegato, concentrazione globale dei leucociti e quella dei basociti e degli eosinofili) e di altri fattori (età, grado della eritroblastemia, *score* della fosfatasi alcalina nei PMN neutrofili, concentrazione dell'Hb, della LDH sierica, dell'uricemia, presenza di anomalie del cariotipo aggiuntive del $Ph^1$, etc.), valorizzato da altri AA., appare controverso. Sokal *et al.* (1984), mediante *analisi multivariata* di alcune variabili di riconosciuto e particolare peso prognostico (età, dimensioni dello splene, entità della piastrinemia, concentrazione dei blasti nel sangue periferico), hanno elaborato un modello di regressione che identifica gruppi di leucemici a diverso rischio: il modello sembra fornire utili elementi orientativi benché l'aspettativa di vita appaia notevolmente variabile nell'ambito di ciascuno dei gruppi. Comunque la *sopravvivenza mediana* è di 60 mesi nel gruppo a basso rischio (32% dei pazienti) e di 32 mesi nel gruppo ad alto rischio (28%). La restante popolazione leucemica presenta valori intermedi.

**Terapia delle leucemie mieloidi croniche**

Radioterapia, monochemioterapia, splenectomia, le sole terapie disponibili fino a tempi recenti, non avevano inciso radicalmente sulla prognosi della LMC (costantemente infausta) e neppure sostanzialmente sulla sopravvivenza mediana, anche se si è passati dai 19 mesi dalla diagnosi (29 mesi dai primi sintomi) dell'epoca pre-chemioterapica (Minot *et al.*, 1924) ai 30-45 mesi dei soggetti sottoposti a monochemioterapia (busulfano, nel 1952; idrossiurea, nel 1960).

La *chemioterapia convenzionale* della LMC in fase florida si avvale — come noto — soprattutto del busulfano e dell'idrossiurea, meno frequentemente, e con minor successo, del dibromomannitolo, della tioguanina o della mercaptopurina, della mostarda uracile. Busulfano o idrossiurea vengono somministrati giornalmente per 1-3 mesi fino al raggiungimento della remissione clinico-ematologica completa (CHR) o della comparsa di segni di tossicità o di iperdosaggio (piastrinopenia, neutropenia grave). Il fine è di sopprimere il clone di cellule staminali leucemiche e di favorire con ciò l'espansione del residuo *pool* di cellule staminali normali. Anche nei casi a risposta più favorevole si ottengono in realtà solo pseudoremissioni giacché di rado si osserva la completa scomparsa del clone cellulare $Ph^1$ positivo e mai in modo permanente. Oltretutto, non sempre è facile individuare la condizione di *minimal residual disease*: insufficienti sono i criteri qualitativi morfologici e citochimici (deficienza di fosfatasi alcalina nei polimorfonucleati neutrofili) e scarsamente sensibili si sono pure rivelate le indagini citogenetiche (presenza e frequenza di mitosi con 22q−) e la stessa ricerca biomolecolare rivolta ad individuare il riarrangiamento di *bcr* se condotta con tecniche convenzionali (*Southern blot hybridization*). Nessuno di tali procedimenti permette infatti di svelare la presenza di cellule maligne a livelli inferiori all'1% del numero totale di cellule presenti nel campione di tessuto biopsiato. Invece sensibilità di gran lunga superiore possiede la recentissima *polymerase chain reaction* (PCR) (Lee *et al.*, 1989), che consente di amplificare le sequenze rappresentative del trascritto chimerico *bcr/abl* e di identificare in tal modo le cellule leucemiche sparse in un contesto di cellule normali a livelli di $10^{-5}$-$10^{-6}$ (v. sopra: *leucemie acute*).

Con l'obiettivo di giungere alla eradicazione della malattia sono stati proposti *protocolli chemioterapici più aggressivi* (Talpaz *et al.*, 1988): tali i *protocolli L5 e L15* (alte dosi di citarabina, tioguanina, asparaginasi per tre cicli; irradiazione dell'area splenica e splenectomia) dello *Sloan-Kettering Cancer Institute*, che consentono sopravvivenze mediane di 58 mesi (L5) e rispettivamente di 50 mesi (L15); il *COAP* (ciclofosfamide, Oncovin® [vincristina], citarabina, prednisone), il *ROAP* (rubidazone, Oncovin® [vincristina], citarabina, prednisone), il *DOAP* (Adriamicina, Oncovin® [vincristina], citarabina, prednisone), il CML-85 (daunorubicina, citarabina, VP-16) (Centurioni *et al.*, 1989).

È controverso se la chemioterapia intensiva presenti reali vantaggi rispetto alla monochemioterapia convenzionale: certamente non consente di eradicare il processo leucemico (solo nel 20-50% dei casi si osserva riduzione delle metafasi $Ph^1$ positive a valori inferiori al 35%) né ritarda sensibilmente l'insorgenza della trasformazione blastica. Un effettivo prolungamento della sopravvivenza mediana sembra raggiungibile nei pazienti ad alto e medio rischio, mentre nessuna differenza rispetto alla CT convenzionale è dimostrabile nei soggetti a basso rischio. Effetti favorevoli, nella fase cronica ed anche nella accelerata, sono stati segnalati con l'impiego di un «nuovo» chemioterapico antraciclinico quale la *idarubicina* (8 mg/$m^2$ e. v. il 1°, 3°, 5° giorno).

Molto interesse suscita attualmente l'impiego degli *interferoni*, da soli e in combinazione con protocolli chemioterapici. Promettenti sembrano essere il rIFN alfa-2a ($5 \times 10^6$ U.I./$m^2$/*die*) e il rIFN alfa-2b ($2$-$5 \times 10^6$ U.I./$m^2$/*die* o a giorni alterni) somministrati nella fase florida per 12 mesi: si osservano remissioni ematologiche complete (CHR) nel 60-75% dei casi, con soppressione (temporanea) del clone $Ph^1$ positivo nel 45-70% dei casi. Meno attivo è il rIFN gamma (0,25-0,50 mg/$m^2$/*die* i. m., per 12 mesi): dà remissioni ematologiche complete nel 25% dei casi. IFN-α e IFN-γ offrono *in vivo* solo parziale resistenza crociata.

È comunque palese che attualmente non è possibile eradicare il clone leucemico senza provocare anche la soppressione totale della normale mielopoiesi, non accettabile a meno che non si ripristini rapidamente la mielopoiesi con l'apporto di cellule emopoietiche (staminali) ottenute da un soggetto normale, geneticamente identico (*trapianto singenico*) o HLA compatibile (*trapianto allogenico*). In ogni caso bisogna effettuare la preliminare completa distruzione del clone leucemico. A questo fine il protocollo più largamente seguito impiega ciclofosfamide e TBI (*Total Body Irradiation*) in dosi sopramassimali: ciclofosfamide 60 mg/kg/*die* per 2 giorni consecutivi, seguito da TBI (2,0 Gy al dì per 6 giorni). Si infonde poi sangue midollare in dosi adeguate. In caso di allotrapianto molti AA. ritengono utile operare la preliminare T-deplezione *in vitro* del midollo del donatore mediante AcMo. Dopo il trapianto si pratica la profilassi della GvHD con ciclosporina e metotrexato. Alcuni AA. sostengono tuttavia che l'effetto benefico del trapianto midollare sarebbe in parte mediato dall'effetto antileucemico della GvHD e dei T linfociti.

Il trapianto midollare è attualmente l'unico presidio da cui ci si può attendere la guarigione della malattia leucemica (Champlin *et al.*, 1988). I risultati sono in rapporto soprattutto alla durata della fase cronica ed all'età del paziente. L'esito migliore si nota in soggetti di età inferiore ai 30 (o al più 40) anni, trapiantati in fase stazionaria precoce (un anno dalla diagnosi): CHR ($Ph^1$ negativo) nel 60% dei





Digitized by Google

casi, persistente per più di 4 anni. Meno felici sono i risultati se il trapianto viene eseguito in fase stazionaria tardiva (2-3 anni dalla diagnosi) specie se con grossa milza (remissione completa < 30%), in fase accelerata o in seconda fase cronica, e scarsissimi se in trasformazione blastica. Si tenga altresì presente che il trapianto di midollo osseo (che quasi sempre è un allotrapianto, rari essendo i casi in cui si può praticare il trapianto singenico) può in pratica essere effettuato solo in una piccola parte dei pazienti leucemici (meno del 10%) a causa dell'età superiore alla ottimale (il che comporta maggiore mortalità per GvHD e per polmonite interstiziale) e alla difficoltà di disporre di un donatore HLA compatibile. Inoltre circa il 25% dei soggetti trapiantati muore per complicanze varie nel periodo immediatamente successivo al trapianto e il 20-60% dei lungosopravviventi sviluppa una GvHD cronica o una recidiva della l. V. anche: MIDOLLO OSSEO*, *trapianto*.

La *terapia della trasformazione blastica* è quella delle l. acute di analogo citotipo (Kantarjian *et al.*, 1988): ne conseguono remissione completa nel 10-30% dei casi e sopravvivenza mediana di 8-12 mesi. Nelle TB mieloidi un temporaneo effetto favorevole può essere ottenuto in circa il 40% dei casi con la citarabina somministrata ad alte dosi (3 g/m$^2$ infusi e. v. in 2 h ogni 12 h per 6-12 volte): nei soggetti responsivi la sopravvivenza è di 6 mesi, in quelli resistenti è di 1,5 mesi. Talora effetti favorevoli sono stati riscontrati anche con citarabina a basso dosaggio (10-15 mg/m$^2$ sottocute, 2 volte al dì per 7-20 giorni). Incoraggianti risultati sono stati segnalati pure con le antracicline, la mitromicina (1 mg/m$^2$ e. v., 2-3 volte la settimana), il mitoxantrone (10 mg/m$^2$/*die* e. v. per 5 giorni; remissione completa del 30%) e con la stessa idrossiurea. Le trasformazioni blastiche linfoidi (a prognosi più favorevole delle mieloidi) si avvantaggiano dei protocolli contenenti vincristina e prednisone (remissioni complete del 40-70%) come le LLA *de novo*.

Il trapianto in fase di trasformazione blastica di *midollo autologo*, prelevato dallo stesso paziente nella fase stazionaria e criopreservato, non ha ovviamente la pretesa di eradicare la malattia in quanto si infondono cellule Ph$^1$ positive ed anche perché le cellule della fase acuta sono spesso resistenti alla CT anche intensiva: tuttavia si è osservato che talora si ottiene un temporaneo ripristino della mielopoiesi normale Ph$^1$ negativa. Comunque il beneficio apportato dall'autotrapianto deve essere considerato come marginale giacché la «*seconda fase cronica*» della LMC dura mediamente solo 4 mesi e meno del 30% dei pazienti sopravvive un anno (Haines *et al.*, 1984).

**Bibliografia**


Bacigalupo A., Frassoni F., Van Lint M. T. *et al.*, *Cancer*, 1986, **58**, 2307.
Bernstein R., *Semin. Hematol.*, 1988, **25**, 20.
Centurioni R., Leoni P., Russo D. *et al.*, *Haematologica*, 1989, **74**, 491.
Champlin R. E., Goldman J. M., Gale R. P., *Semin. Hematol.*, 1988, **25**, 74.
De Braekeleer M., *Cancer Genet. Cytogenet.*, 1987, **44**, 215.
Dreazen O., Canaani E., Gale R. P., *Semin. Hematol.*, 1988, **25**, 35.
Gavosto F., Aglietta M., Piacibello W., *Malattie Mieloproliferative*, 1987, UTET, Torino.
Haines M. E., Goldman J. M., Worsley A. M. *et al.*, *Br. J. Haematol.*, 1984, **58**, 711.
Kantarjian H. M., Talpaz M., Gutterman J. U., *Hematol. Pathol.*, 1988, **2**, 91.
Lee M. S., Chang K. S., Freireich E. J. *et al. Blood*, 1988, **72**, 893.
Sokal J. E., Baccarani M., Russo D., Tura S., *Semin. Hematol.*, 1988, **25**, 49.
Strife A., Clarkson B., *Semin. Hematol.*, 1988, **25**, 1.
Talpaz M., Kantarjian H. M., Kurzrock R., Gutterman J. U., *Semin. Hematol.*, 1988, **25**, 62.
Torelli G., *Biologia molecolare della leucemia mieloide cronica*, in Torelli U. *et al.*, *Biologia Molecolare delle Leucemie e dei Linfomi*, 1989, USES, Firenze, pp.75-100.


CARLO MAURI

## LEUCEMIE LINFATICHE CRONICHE

### Varianti citomorfologiche e immunofenotipiche

Le linfopatie ad espressione leucemica e a decorso cronico che raccogliamo sotto la comune denominazione di «leucemie linfatiche croniche» (LLC) comprendono uno spettro di processi neoplastici interessanti la linea cellulare B oppure — meno frequentemente — la linea T periferica. Tali processi comportano l'espansione clonale e l'accumulo di uno stipite cellulare linfoide relativamente «maturo», che tuttavia presenta caratteristiche citomorfologiche e immunofenotipiche diverse in vari gruppi di casi, cui sono correlati quadri clinici sotto più aspetti dissimili. Nell'ambito delle LLC è pertanto possibile individuare alcune entità nosologiche relativamente autonome.

La *classificazione delle LLC* è riportata nella tab. XIX.

*Leucemie croniche a linfociti B*

1. *Leucemia linfocitica cronica B classica*. – È la forma più frequente di LLC. Benché la controparte cellulare normale della LLC non sia stata ancora individuata con sicurezza, si ritiene generalmente che la trasformazione neoplastica propria della tipica LLC-B avvenga in una fase evolutiva della linea cellulare B piuttosto precoce, immediatamente successiva alla pre-B (cμ+). Nella linea cellulare che ne deriva non appare di solito evidente la progressione verso uno stadio finale maturo, ma alcuni reperti *in vivo* e *in vitro* suggeriscono che la cellula linfoide neoplastica non è sempre irreversibilmente «congelata» ad un determinato livello di maturazione (Gale e Foon, 1987).

Nella LLC-B si possono infatti rinvenire cellule terminali della linea maturativa B (plasmacellule) che esprimono lo stesso idiotipo delle cellule maligne prettamente linfocitiche, e l'incubazione *in vitro* di cellule LLC con agenti eccitomaturativi (esteri di forbolo, TPA; mitogeni delle cellule B; interferoni alfa o gamma) inducono

**TAB. XIX. CLASSIFICAZIONE DELLE LEUCEMIE LINFATICHE CRONICHE (LLC)**

**A. Leucemie croniche a linfociti B**
- Leucemia linfocitica cronica a cellule B («classica») (LLC-B)
  - Variante con grandi linfociti (LLL)
  - Variante prolinfocitoide (LLC/LP)
  - *Monocyte-like B-CLL*
- Leucemia prolinfocitica B (LP-B)
- Tricoleucemia (*hairy cell leukemia*, HCL)
  - *Variant HCL* (HCL-v)
- Leucemia plasmacellulare cronica (LPC)

**B. Leucemie croniche a linfociti T**
- Leucemia linfocitica cronica a cellule T (LLC-T)
- Leucemia cronica con grandi linfociti granulosi (LLC/LGL)
- Leucemia prolinfocitica T (LP-T)
- Tricoleucemia a cellule T (HCL-T)
- Sindrome di Sézary (linfomi cutanei epidermotrofici a cellule T)
- Leucemia/linfoma a cellule T dell'adulto (ATL)

**C. Linfomi a cellule B, leucemizzati**
- Linfomi linfoplasmocitoidi (LLP)
- Linfomi derivati dalle cellule del follicolo (LF)
- Linfoma intermedio (linfoma della zona mantellare)
- Linfoma splenico con linfociti villosi circolanti (SLVL)
- Linfomi a grandi cellule B





Digitized by Google

le cellule a differenziarsi in una cellula attivata simile al prolinfocito della l. cronica prolinfocitica (LP) o in plasmacellule d'aspetto maturo o in cellule simili a quelle della tricoleucemia (HCL) (Carlsson *et al.*, 1988).

Come noto, il linfocito della LLC-B presenta in prevalenza (> 85% delle cellule) la *morfologia* del piccolo linfocito (diametro medio 7,7 ± 1,2 μm), che in microscopia ottica mostra scarso citoplasma e nucleo rotondo con cromatina a blocchi grossolani, senza distinti nucleoli. L'esame in TEM rivela tuttavia, nell'ambito della popolazione cellulare leucemica, una maggiore variabilità di reperti, che possono essere interpretati come fasi maturative anche morfologicamente distinte: possiamo osservare infatti cellule con scarso citoplasma e pochi ribosomi, cellule con prominente apparato di Golgi e filiere di reticolo endoplasmatico ruvido, cellule con strutture cristalline intracitoplasmatiche (aggregati di catene γ o λ, talora μ o κ).

Anche altri reperti documentano una variabilità di stadio maturativo tra i linfociti della LLC-B e specialmente i *caratteri immunofenotipici*.

In circa l'80% dei casi si trovano espresse integralmente, ma per lo più a bassa densità, immunoglobuline di membrana (sIg) costituite da una singola classe di catene pesanti, soprattutto μ (ma vi può essere coespressione μ/δ), con restrizione ad una sola catena leggera κ o λ e ad un solo idiotipo. La catena leggera viene sintetizzata in eccesso. La presenza di sIgD attesterebbe uno stadio di maggiore maturità cellulare. Meno frequentemente si rinvengono catene γ o α, che potrebbero anche essere estrinseche e non sintetizzate dalle cellule.

*Caratteri immunofenotipici* peculiari della superficie linfocitaria nella LLC-B (Gale e Foon, 1987) sono: presenza di recettori per Em, FcIgG, C'3d (CR2) e in minor misura di C'3b (CR1), di HLA-DR (Ia), di antigeni di B cellule umane quali BA-1 (CD24), B1 (CD20), B2 (CD21), B4 (CD19), cCLLa (un antigene con peso molecolare di 69 kd descritto di recente, presente in tutte le cellule della LLC-B e della HCL e invece assente nei linfociti normali e di altre forme leucemiche), CD5 (identificato dagli anticorpi monoclonali anti-Leu-1, T101, anti-T1) che precedentemente sembrava ristretto ai linfociti T, TQ1 (presente nel 60-75% di pazienti con LLC-B e precedentemente ritenuto specifico della sottoclasse $T_8$). Mancano invece nella LLC-B la terminal-desossinucleotidil-transferasi (TdT), l'antigene cALLA (CD10) ed è infrequente quello FMC-7, comune invece nella LP e nella HCL.

Nei linfociti della LLC-B è possibile identificare anche *immunoglobuline intracitoplasmatiche* (cIg). Nel 25-50% dei casi le cellule della LLC-B secernono in circolo IgM monoclonali, ma solo nel 5% in quantità rilevante ed evidenziabile come picco paraproteinemico nell'usuale elettroforegramma mentre nei restanti casi l'evento è documentabile solo con l'elettroforesi ad alta risoluzione (immunofissazione).

La *reazione citochimica* per la fosfatasi acida mostra costantemente in tutte le cellule linfoidi una positività granulare citoplasmatica, mentre la reazione positiva per la β-glucuronidasi e le α-naftilacetato esterasi (ANA-E) sembra essere appannaggio delle sole cellule più mature.

Nella LLC-B si rinvengono spesso *anomalie citogenetiche*, anch'esse di tipo clonale: la più frequente (30-50% dei casi) è la +12 (mentre rara è la +18) e non insolite sono le anomalie che riguardano il cromosoma 14, quali 14q+ (q32), del (14q), t(11; 14) (q13; q32) o le anormalità combinate.

Particolarmente interessante dal punto di vista della *biologia molecolare* — anche se d'incerto significato — è la t(11; 14), che comporta lo spostamento di un piccolo frammento del braccio lungo del cromosoma 14 sul cromosoma 11 e quello della maggior parte del braccio lungo del n. 11 sul n. 14 (donde formazione di un 11q− e di un 14q+). Il punto di rottura sul n. 14 è associato ad una precisa regione $J_H$ dei geni delle catene pesanti delle immunoglobuline, che potrebbe essere sede di riarrangiamenti V/J o D/J: se, come sembra essere frequente, il *breakpoint* è in posizione 5' rispetto al segmento J4, i geni $V_H$ vengono trasferiti sul cromosoma 11q−. Per quanto concerne invece il cromosoma 11, i punti di rottura appaiono raggruppati in una regione ristretta (0,9 kb) e si può ipotizzare che tale segmento rappresenti un oncogène (*bcl-1, B-cell leukemia/lymphoma-1*) di cui peraltro non possediamo informazioni né circa la struttura e il ruolo normale né circa l'espressione nei linfomi a cellule B (Torelli U. *et al.*, 1989). Per effetto della traslocazione il *bcl-1* viene trasferito sul cromosoma 14 in

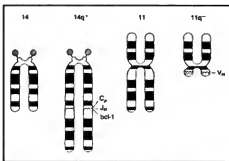



Fig. 29. L. linfatica cronica B (LLC-B). Raffigurazione schematica della posizione assunta dai geni *bcl-1* e dai geni delle catene pesanti delle Ig dopo traslocazione t(11; 14) (q13; q32), secondo Croce C. M. *et al.* (*Lab. Invest.*, 1984, **51**, 258). (*Da Narni F., in Torelli U. et al., Biologia molecolare delle leucemie e dei linfomi, 1989, USES, Firenze*).

prossimità dei geni delle catene pesanti delle immunoglobuline (fig. 29). È da notare che, a differenza di quanto si osserva nel linfoma di Burkitt, l'oncogène *c-myc* non appare strutturalmente alterato né amplificato nella LLC e nei linfomi linfocitici.

Oltre a questi reperti che appaiono peculiari della LLC-B «classica», altri ne sono stati rilevati di recente, che consentono di individuare alcune «*varianti della LLC-B*», distinte dalla forma comune come pure dalla LP e dalla HCL, da tempo riconosciute quali distinte individualità nosologiche.

a) Una *prima variante* concerne casi di *LLC-B con grandi linfociti* (*large B-cell chronic lymphocytic leukemia*, LLL) (Orfao *et al.*, 1988): nella popolazione leucemica predominano (> 50%) i grandi linfociti (diametro medio 11,3 ± 0,8 μm) con ampio citoplasma, nucleo maturo con cromatina a blocchi, nucleoli assenti o molto piccoli. L'immunofenotipo è caratterizzato dalla costante presenza di sIg (μ+ δ+ nell'80% dei casi) e da assai frequente ed intensa espressione degli antigeni FMC-7, CD9, CD20, CD5. È verosimile pertanto che si tratti di tipi di cellule più differenziate del piccolo linfocito caratterizzante la LLC-B classica.

In questa variante i linfonodi sono interessati in due o più stazioni nel 90% dei casi (contro il 60% della LLC-B classica). In genere l'infiltrazione leucemica è più largamente presente nei linfonodi che nella milza e nel midollo osseo. Prevalgono all'esordio gli stadi I-II (mentre nella LLC-B classica con grande frequenza si osserva lo stadio IV). Non mancano tuttavia *forme di transizione* tra classica LLC-B e LLL.

b) Una *seconda variante* riguarda casi di LLC-B con eccedenza di prolinfociti (> 10%): tale *variante prolinfocitoide* della LLC-B costituisce una vera e propria *leucemia a cellule miste*, in cui gli elementi linfoidi hanno in parte espressioni morfologiche vicine a quelle proprie della leucemia prolinfocitica e reperti immunofenotipici propri della LLC (Melo *et al.*, 1987).

c) Una *terza variante* è rappresentata dalla rara «*monocyte like B-CLL*», ancora *sub iudice* quale forma a sé stante: le cellule linfoidi mostrano basso rapporto nucleo/citoplasma e presenza di fini granuli azzurrofili nel citoplasma, antigeni di membrana propri della linea B (HLA-DR, CD19, CD24), sIg ed anche antigeni CD25/IL2R ed alcuni




Digitized by Google

antigeni mielo-associati (CD11c, CD31, CD32) nonché due determinanti correlati ai macrofagi (KiM6, KiM7).

2. *Leucemia prolinfocitica B (LP-B)*. – Può essere considerata una forma a sé stante di malattia linfoproliferativa, piuttosto che una semplice variante della LLC-B classica. È dovuta alla proliferazione di un clone linfoide con fenotipo più «maturo» di quello caratterizzante la tipica LLC-B, benché la morfologia appaia più immatura per la presenza di un nucleolo prominente e di ampio citoplasma moderatamente basofilo. La microscopia elettronica evidenzia scarso sviluppo di lisosomi, poliribosomi, reticolo endoplasmatico ruvido, apparato di Golgi: sono caratteri distintivi nei confronti delle cellule caratterizzanti altri linfomi e segnatamente dei linfoblastici. I «prolinfociti» B possiedono sIg (μ+δ+) in concentrazione più elevata che nei piccoli linfociti della classica LLC-B, elevata espressione dei recettori Em e minore reattività CD5. Poche sono le cellule in cariocinesi. Frequenti sono le anomalie cromosomiche che coinvolgono soprattutto il cromosoma 14 (come nella LLC-B classica). Si possono però riscontrare anche la t del (3) (p13) e la t(6; 12) (q15; p13) che sembrano essere specifiche della LP-B.

Clinicamente la LP-B è caratterizzata da spiccata splenomegalia e da scarsa linfoadenomegalia. Esiste rilevante leucocitosi linfoide (> 100 × 10⁹/L).

3. *Tricoleucemia (hairy cell leukemia, HCL)*. – Può presentarsi nella *forma classica*, con i tipici linfociti capelluti che possiedono *immunofenotipo B* (rarissime sono le *forme a T cellule, HCL-T*) e sono forniti di una particolare fosfatasi acida (coenzima 5) tartrato-resistente (v. TRICOLEUCEMIA*).

Esiste però anche una meno comune *variante* (*«Variant»-HCL, HCL-v*) descritta da Cawley *et al.* (1980): è caratterizzata dalla proliferazione di un clone di cellule a morfologia tricolinfocitica ma con prominente nucleolo e con caratteri immunofenotipici intermedi tra HCL e LP (Catovsky *et al.*, 1984) in quanto sono prive delle espressioni di antigeni di membrana caratteristici della HCL classica (HC2, CD25, CD15) mentre ne possiedono altri vicini alla LP.

Presenta massiva splenomegalia e decorso cronico, elevata linfocitosi senza neutropenia o monocitopenia (propri della HCL classica); il midollo osseo è facilmente aspirabile con agobiopsia (non *dry tap* come nella HCL classica). La HCL-v non è sensibile all'interferone, contrariamente alla forma classica.

4. *Leucemia plasmacellulare cronica (LPC)*. – Plasmacellule mature o anche «plasmoblasti» sono costantemente presenti in circolo (ma con scarso rilievo quantitativo) nel mieloma multiplo. Una vera e propria l. a plasmacellule (LPC) può costituire una fase evolutiva del mieloma multiplo (20% dei casi) oppure manifestarsi come una l. *de novo* (3% di tutti i plasmocitomi): in tal caso ha decorso subacuto o acuto (anche di pochi mesi) ed è scarsamente sensibile ai protocolli chemioterapici fino ad oggi sperimentati (v. PLASMOCITOMA*).

*Forme leucemizzate di linfomi non-Hodgkin a cellule B*

Queste forme citologiche di LLC a cellule B presentano affinità morfologiche con le cellule linfoidi presenti nel sangue periferico e nel midollo osseo di vari tipi di linfomi non-Hodgkin (LNH) (*forme leucemizzate dei LNH a cellule B*). Ne segnaliamo le forme principali (v. anche: LINFOMI*, *linfomi non-Hodgkin*); sottolineando che consideriamo il linfoma linfocitico e la LLC una sola entità nosologica, di cui abbiamo già trattato.

1. *Linfomi linfoplasmocitoidi*. – La cellula linfoide neoplastica ha in questi casi morfologia plasmocitoide, spesso citoplasma abbondante, PAS-positività granulare che può talora assumere l'aspetto di *«grape cells»*. Possiede sIg e cIg; secerne Ig (più spesso IgM) nel siero (v. WALDENSTRÖM, MALATTIA DI).

2. *Linfomi derivati dalle cellule follicolari (LF)*. – La cellula leucemica presente nel sangue periferico e nel midollo osseo è costituita in larga prevalenza da centrociti di piccole o di grandi dimensioni, con nucleo indentato, e ciò anche se si tratta di linfomi di tipo misto centroblastico/centrocitico.

3. *Linfoma intermedio o della zona mantellare (linfoma intermedio)*. – La proliferazione neoplastica origina dalle cellule situate alla periferia dei follicoli germinativi, i cui centri residui presentano atrofia di vario grado. I linfociti neoplastici sono di medie o grandi dimensioni (v. LINFOMI*, *linfomi non-Hodgkin*).

4. *Linfoma splenico con linfociti villosi circolanti (Splenic B-cell lymphoma with circulating villous lymphocytes, SLVL)*. – È stato descritto da Melo *et al.* (1987). Appare caratterizzato da grande splenomegalia e da presenza in circolo di variabile quantità di tricolinfociti simili morfologicamente a quelli propri della HCL classica: sono però

**TAB. XX. PRINCIPALI CARATTERI FENOTIPICI DELLE LEUCEMIE LINFATICHE CRONICHE A CELLULE B E DI ALCUNI LINFOMI NON-HODGKIN A CELLULE B**

| *Markers* | LLC-B | LP-B | HCL | LF | L Interm. | SLVL | LLP | LPC |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| sIg (intensità) | +/– | + + + | + + | +/+ + | +/+ + | + + | + | – |
| CD5(T1) | + | –/+ | – | – | + + | – | – | – |
| CD19/20/24 | + + | + + | + + | + + | + + | + + | + | – |
| CD21 | + + | + + | +/– | +/– | +/– |  | – | – |
| FMC7/CD22 | –/+ | + + | + + | + + | + + | + + |  | – |
| CD10(cALLA) | – | –/+ | – | + + | –/+ | – | – | + |
| CD25 (Tac) | – | – | + + | – | – | –/+ | – | – |
| CD15 | – | – | + + | – | – | – | – | – |
| HC2 | – | – | + + | – | – | – | – | – |
| CD38(T10) | – | – | – | – | – | – | + | + + |

LLC: leucemia linfocitica cronica; LP: leucemia prolinfocitica cronica; HCL: *hairy cell leukemia*; LF: linfomi derivati dalle cellule del follicolo germinativo; L interm.: linfoma intermedio (linfoma della zona mantellare); SLVL: *splenic lymphoma with circulating villous lymphocytes*, LLP: linfoma linfoplasmocitoide, LPC: leucemia plasmacellulare cronica.





Digitized by Google

privi di fosfatasi acida tartrato-resistente e mancano degli antigeni di membrana (HC2, Tac) tipicamente espressi nella HCL classica. Nel 50% dei casi si notano nel siero componenti M. L'infiltrazione linfoide della milza interessa preferenzialmente la polpa bianca, come nella LLC-B. È un linfoma strettamente correlato al gruppo dei linfomi linfoplasmocitici (immunocitomi), compresa la malattia di Waldenström con cui presenta non poche sovrapposizioni. Deve essere distinta soprattutto dalle forme spleniche pure della LLC-B e della LP-B.

5. *Linfomi a grandi cellule B.* – La leucemizzazione del linfoma immunoblastico B è rara mentre espressioni leucemiche non sono infrequenti nel linfoma linfoblastico B tipo Burkitt (v. LINFOMI*, *linfomi non-Hodgkin*; BURKITT, LINFOMA DI*).

Ai fini della *diagnosi differenziale citologica tra le diverse forme di LLC e di B-linfomi leucemizzati*, oltre ai caratteri morfologici apprezzabili in microscopia ottica e in TEM, sono importanti alcune peculiarità immunofenotipiche, riportate nella tab. XX.

*Leucemie croniche a linfociti T*

Nell'ambito delle l. croniche a linfociti T possiamo distinguere almeno cinque tipi fondamentali, a prescindere dalla rara HCL-T di cui già si è detto.

1. *Leucemia linfocitica cronica a cellule T (LLC-T).* – La cellula neoplastica della LLC-T non è morfologicamente distinguibile da quella della corrispondente forma a B- cellule. La malattia è rara (< 5% di tutti i casi di LLC) e presenta caratteri clinici sovrapponibili a quelli della forma B, tranne una maggiore propensione alle localizzazioni cutanee e decorso generalmente più aggressivo. Sono state descritte numerose anomalie del cariotipo e con particolare frequenza la inv(14) (q11; q32) e la trisomia del braccio lungo del cromosoma 8, t(8p–; 8q)iso(8q).

2. *Leucemia cronica con grandi linfociti granulosi (LLC/LGL) (malattia linfoproliferativa cronica con T-γ linfociti).* – È una infrequente malattia linfoproliferativa che colpisce soggetti adulti (età mediana 60 anni, con ampio *range*) di ambo i sessi. È caratterizzata da quadro leucemico con linfocitosi di vario grado ma quasi sempre inferiore a $50 \times 10^9/l$, larga infiltrazione midollare di cellule linfoidi (80%), neutropenia spiccata, anemia, talora ipogammaglobulinemia, incostante e modesta splenomegalia ed epatomegalia, frequente assenza di linfoadenomegalie e di localizzazioni cutanee; vi sono ricorrenti infezioni. Il quadro clinico, in definitiva, è in rapporto alla citopenia ematica e soprattutto alla neutropenia, che può essere ciclica, piuttosto che al progressivo interessamento multiviscerale (Bassan *et al.*, 1989). L'elemento citologicamente caratterizzante è un grande linfocito (*large granular lymphocyte*, LGL) con nucleo di solito eccentrico, rotondo un po' irregolare, eterocromatina marginata e talora nucleoli, citoplasma ampio contenente granuli azzurrofili, peraltro più piccoli e meno numerosi che nei LGL normali. La concentrazione dei LGL nel sangue periferico è spesso fluttuante, ma a livelli superiori a $2 \times 10^9/l$. I LGL mostrano positività polare per la fosfatasi acida (tartrato sensibile) e sono β-glucuronidasi, esterasi non specifiche e PAS positivi. La determinazione dei *markers* di membrana nei LGL rivela una considerevole eterogeneità: comunemente si riscontra un fenotipo CD3+4–8+11b–16–, con reazione positiva anche con gli anticorpi monoclonali Leu7 e/o Leu11 (che riconoscono i LGL). Quasi costantemente si reperisce configurazione riarrangiata dei geni TCR (*T cell receptor*) delle catene β e γ, più raramente delle sole γ. Nella LLC/LGL non sono infrequenti l'aumentata sintesi di immunoglobuline (ipergammaglobulinemia policlonale), la formazione di autoanticorpi (anti-neutrofili, anti-piastrine e anti-eritrociti, anti-nucleo, fattore reumatoide), e di immunocomplessi e di crioglobuline, la gammapatia monoclonale, l'aumentata concentrazione sierica di $\beta_2$-microglobulina.

3. *Leucemia prolinfocitica T (LP-T).* – È una l. a T cellule, morfologicamente e fenotipicamente eterogenea; è alquanto rara (20% di tutte le LP). È nota una *variante a grandi cellule*, con nucleolo prominente, e una *variante a piccole cellule*. Prevalgono dal punto di vista fenotipico le forme a cellule $T_h$(CD4+), che esprimono fortemente l'antigene di membrana CD7(Leu9), ma sono noti casi con fenotipo CD8+ ed altri con coespressione CD4+CD8+ (Catovsky *et al.*, 1984). Morfologicamente non sono distinguibili dagli elementi linfoidi della corrispondente forma B. Sostanzialmente identico è pure il quadro clinico, salvo maggiore frequenza e sviluppo delle linfoadenomegalie. La LP-T presenta una molteplicità di alterazioni cromosomiche, analogamente alla LLC-T. In due casi di LP-T è stato rinvenuto il retrovirus HTLV-II.

4. *Sindrome di Sézary.* – Costituisce l'espressione leucemica di linfomi cutanei epidermotrofici a cellule T (v. MICOSI FUNGOIDE; SÉZARY, SINDROME DI). Caratteristici sono le dimensioni piuttosto cospicue delle cellule linfoidi, con eromatina addensata e piccoli nucleoli, e l'aspetto cerebriforme dei nuclei (particolarmente evidente all'esame in TEM). Abbastanza caratteristica è la presenza di un antigene di membrana evidenziabile con l'anticorpo monoclonale BEz. Di solito il fenotipo è *T helper*, più raramente *T suppressor*.

5. *Leucemia/linfoma a cellule T dell'adulto (ATL).* – Nella sua *forma endemica* l'ATL è dovuta ad un retrovirus (HTLV-I) e presenta un tipico *clustering* geografico (isole sudoccidentali del Giappone, Caraibi; colpisce anche soggetti di origine caraibica emigrati in Europa). In occidente ed anche in Italia sono stati osservati *casi sporadici*.

In quasi tutti i pazienti appartenenti alle aree endemiche e in una parte dei casi sporadici, con analisi in *Southern blot* è stato possibile documentare nel DNA delle cellule linfoidi sequenze geniche virali (HTLV-I); nel siero sono quasi costantemente evidenziabili anticorpi anti-HTLV-I. Le cellule dell'ATL hanno medie dimensioni e nucleo pleomorfo con bizzarre e profonde multilobulazioni (*flower cells*): la morfologia è peraltro diversa da quella propria del nucleo convoluto delle cellule leucemiche linfoblastiche T. L'immunofenotipo è per lo più quello dei *T helper*, più raramente dei *T suppressor*; è fortemente espresso l'antigene di membrana CD25. Non sono infrequenti complesse anormalità del cariotipo, specie la del(6q), la +3 e la t(14;19).

Il decorso della malattia è solitamente aggressivo (mediana di sopravvivenza inferiore ai 18 mesi), con frequente interessamento cutaneo (30%), epatosplenomegalia, linfoadenomegalie generalizzate (ma assenza di massa mediastinica), lesioni osteolitiche (30-50%). L'espressione leucemica è in genere cospicua (leucocitosi > $50 \times 10^9/l$). Assai frequente è l'ipercalcemia ed ancor più l'ipercalciuria (anche in soggetti normocalcemici), associate ad elevata concentrazione di cAMP nefrogeno ed a ridotta concentrazione sierica di $1,25(OH)_2D_3$ con livelli bassi o normali di ormone paratiroideo (iPTH). Sembra essere in gioco un fattore con attività simil-PTH secreto dai linfociti maligni (linfochina).

**Prognosi delle leucemie linfatiche croniche**

La *prognosi della LLC-B classica* è condizionata soprattutto dall'entità della massa neoplastica e dalla sua velocità di espansione (tempo di duplicazione linfocitaria) nonché dall'efficienza della mielopoiesi normale residua, che è pre-




Digitized by Google

valentemente in rapporto al grado di infiltrazione midollare (nodulare, interstiziale, diffusa): tali fattori incidono sulla modalità del decorso della malattia che infatti — a seconda dei casi — può essere per lungo tempo stazionario o più vivacemente evolutivo.

Sono stati prospettati numerosi modelli di *stadiazione* della LLC ai fini prognostici (Rai e Montserrat, 1987; Mandelli *et al.*, 1987): tutti concordano nel definire ad alto rischio i pazienti con insufficienza midollare, denunciata da anemia e piastrinopenia, che rappresentano i più importanti fattori prognostici. A questi può essere aggiunto pure il criterio del numero delle aree interessate dal processo leucemico.

La classificazione di Binet *et al.* (1981), oggi la più largamente seguita, contempla tre *gruppi prognostici*, così definiti: *gruppo C*, anemia (Hb < 100 g/l) e/o piastrinopenia (P < 100 × $10^9$/l); comprende il 15% dei pazienti; la mediana di sopravvivenza è di 2 anni. *Gruppo B*, né anemia né piastrinopenia, tre o più aree interessate (contare quale una ciascuna delle seguenti: linfonodi cervicali, ascellari, inguinali sia uni- che bilaterali, milza, fegato); comprende circa il 35% dei pazienti; la mediana di sopravvivenza è di 7 anni. *Gruppo A*, né anemia né piastrinopenia, meno di tre aree interessate; comprende il 50% dei pazienti; la sopravvivenza non sembra differire significativamente da quella della popolazione della stessa età e dello stesso sesso (mediana presumibile superiore ai 10 anni).

In altri termini, il gruppo A può essere definito *indolente* mentre il gruppo C può essere indicato quale *aggressivo* ed il gruppo B quale *intermedio*. L'assegnazione all'uno o all'altro gruppo deve emergere non solo dal rilievo delle condizioni presentate dal paziente al momento della prima osservazione, ma pure dal controllo delle loro modificazioni nel tempo: secondo molti AA. l'osservazione deve prolungarsi per almeno 24 settimane, entro tale lasso di tempo una forma più aggressiva in genere si palesa chiaramente anche se all'esordio non appariva tale.

Tra gli *indizi di aggressività* del processo o di evoluzione in senso progressivo di una fase inizialmente «indolente» della malattia vanno annoverate — oltre all'instaurarsi di anemia e/o di piastrinopenia e all'aumento delle localizzazioni neoplastiche — anche la perdita di espressione dell'antigene TQ1 e degli antigeni CD21 e HaK, nonché l'acquisizione degli antigeni PCA-1 e CD10 (Gale e Foon, 1987). Significato prognostico peggiorativo viene ascritto pure ad altri parametri: elevato rapporto dei recettori per il complemento CR2/CR1, presenza di elevato numero di recettori per Fc, presenza di sIg della sola classe μ (in confronto a μ + γ e a δ), l'elevata concentrazione sierica di LDH, di deossitimidinochinasi, di $\beta_2$-microglobulina. Infine anche talune anomalie cromosomiche sembrano essere correlate allo stadio evolutivo della malattia (Han *et al.*, 1987): la +12 è di solito l'unica anomalia presente in fase iniziale mentre la sua combinazione con altre modificazioni del cariotipo è propria delle fasi avanzate e forse in rapporto ad una evoluzione clonale o a dedifferenziazione, talora alle terapie istituite. Significato prognostico peggiorativo (sopravvivenza più breve) avrebbe l'anomalia 14q+ (q32). Le forme «indolenti» con cariotipo normale sembrano avere decorso particolarmente favorevole: per tali casi è stata proposta la denominazione di *«linfocitosi monoclonale benigna»* o di *«monoclonal B-cell lymphocytosis of undetermined significance» (B-MLUS)*.

### Terapia delle leucemie linfatiche croniche

Le varie modalità di decorso della malattia e le difficoltà a chiarirne la prognosi come pure le remore derivanti dall'età avanzata di molti pazienti e dal timore di comprometterne ulteriormente la responsività immunologica, rendono spesso problematica la scelta di una adeguata *strategia terapeutica*.

È largamente condivisa l'opinione che la LLC-B indolente (gruppo A) richieda solo attenta osservazione e temporanea rinuncia agli interventi terapeutici citoriduttivi, che in tale caso non sembrano incidere significativamente sul decorso né sulla sopravvivenza. Il significato prognostico dell'elevato grado di linfocitosi è controverso: molti AA. negano che costituisca di per sé indicazione alla terapia, ma nel sistema di stadiazione proposto da Mandelli *et al.* (1987) la concentrazione di linfociti nel sangue periferico superiore a 60 × $10^9$/l viene considerata tra i fattori peggiorativi, che richiedono il ricorso alla terapia.

Nelle forme aggressive d'*emblée* (*gruppo C*) o divenute tali dopo un inizio apparentemente indolente, è ovviamente indicato un intervento terapeutico. Largamente indicati sono ancor oggi i protocolli classici di *monochemioterapia* continuativa o ciclica con clorambucile o ciclofosfamide, associati o meno ai cortisonici, o la blanda *polichemioterapia* (COP o CVP: ciclofosfamide, Oncovin® [vincristina], prednisone). Masse linfonodali particolarmente voluminose possono essere sottoposte a *terapia radiante* e del pari potrà essere irradiata l'area splenica in caso di grande splenomegalia, ove può giovare talora anche l'irradiazione splenica ciclica a basso dosaggio (1 Gy/settimana per 10 volte). Altre forme di terapia radiante (TBI [*Total Body Irradiation*]; irradiazione extracorporea del sangue; linfografia radioattiva; irradiazione timica) non sono oggi più eseguite. È stata proposta la *splenectomia* in forme resistenti alla chemioterapia, ma una sua precisa indicazione sembra provata solo nei casi con concomitante anemia emolitica autoimmune, piastrinopenia steroide-resistente, grave pancitopenia, grande splenomegalia dolorosa.

Le predette terapie tuttavia inducono remissione completa in meno del 20% dei casi e più spesso solo remissione parziale; nel 20% dei casi non si osserva alcuna risposta favorevole. Non sembra altresì che la sopravvivenza mediana ne risulti sensibilmente prolungata: con lenta ma inesorabile progressione si instaurano alla fine cachessia o irreversibile insufficienza midollare, oppure si osserva una evoluzione citologica attraverso uno spettro di differenziazione B-cellulare in una forma di leucemia «prolinfocitica» o «prolinfocitoide» o (in meno dell'1% dei casi) in una crisi acuta linfoblastica od anche in un quadro prettamente linfomatoso (linfoma immunoblastico) dapprima distrettuale, indi generalizzato (*sindrome di Richter*) o in un mieloma multiplo. Non raramente però (8% dei casi) il quadro terminale è quello di una leucemia acuta mieloide.

La constatazione della sostanziale inadeguatezza di questa strategia terapeutica ha indotto di recente ad attuare, soprattutto nel gruppo C, una *terapia aggressiva*, mediata da quella dei linfomi a malignità intermedia o elevata, e rivolta a conseguire l'eradicazione del processo maligno. Tra i molti protocolli proposti ricordiamo il POACH (prednisone, Oncovin® [vincristina], Ara-C [citarabina], ciclofosfamide, adriamicina [doxorubicina]) e il M2 (vincristina, melfalan, ciclofosfamide, carmustina, prednisone), che tuttavia i pazienti — in genere anziani — mal sopportano e che comunque non danno più del 20% di remissione completa e il 40-50% di remissione parziale. Migliori risultati sono raggiungibili nel gruppo C con il protocollo CAP (ciclofosfamide, adriamicina, prednisone) e soprattutto con il CHOP modificato, proposto dal *French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukemia* (1987), in cui l'adriamicina (doxorubicina) può essere utilmente sostituita dalla epidoxorubicina, come nel protocollo CEOP: ciclofosfamide 300 mg/m² e. v. nei giorni 1 → 5, vincristina 1 mg/m² e. v. il giorno 1, epidoxorubicina 30 mg/m² e. v. il giorno 1, prednisone 40 mg/m² nei giorni 1 → 5; 6 cicli ad intervalli di un mese, seguiti da 6 cicli ad intervalli di 3 mesi. Con il CHOP ed il CEOP si possono ottenere nel gruppo C so-





Digitized by Google

pravvivenze pari a quelle del gruppo B, con prolungate remissioni, anche complete.

*Sub iudice* sono alcuni recenti tentativi di *terapia non convenzionale* della LLC, con *interferone alfa ricombinante* (rIFN alfa) soprattutto nei casi iniziali di malattia, con *deoxycoformycin* (Pentostatin®), con fludarabina monofosfato, con *alfa tumor necrosis factor*. In fase di preliminare sperimentazione clinica sono i tentativi condotti con la somministrazione *in vivo* di *anticorpi monoclonali* (AcMo) ottenuti dal topo; tali il T101 (anti-DC5) e l'anti-Leu-1 od anche il T101 coniugato con la catena alfa della ricina per incrementare la citotossicità mirata di questa (Foon e Gale, 1987). Viene suggerito l'uso di dosi iniziali assai elevate dell'AcMo (> 500 mg) o il simultaneo impiego di immunodepressori per indurre la tolleranza dell'ospite all'AcMo ed evitarne la neutralizzazione anticorpale (anti-topo). Ancor più interessante è l'impiego di *anticorpi monoclonali anti-idiotipo* reattivi con l'idiotipo delle Ig presenti nelle cellule B neoplastiche e quindi tumore-specifici per il singolo paziente. Limiti teorici a questo approccio terapeutico sono l'eventuale biclonalità del tumore e la formazione di anticorpi circolanti anti-topo, nonché la possibile instabilità dell'idiotipo per mutazioni somatiche nell'ambito della regione variabile dei geni delle immunoglobuline.

In soggetti relativamente giovani è stato tentato il *trapianto midollare allogenico*, con risultati non particolarmente felici.

La *leucaferesi* intensiva praticata con separatori cellulari e reiterata a lungo può risultare di qualche beneficio in pazienti selezionati, refrattari alla CT o con grave neutropiastrinopenia farmaco-indotta oppure con sindrome di iperviscosità dovuta ad iperleucocitosi (> 500 × $10^9$/l).

Tra le *terapie coadiuvanti* non dev'essere trascurata la somministrazione periodica (a ritmo mensile) di immunoglobuline complete ad alte dosi, per via venosa.

La *leucemia prolinfocitica B* (LP-B) è notevolmente resistente agli usuali presidi terapeutici ed ha spesso decorso relativamente breve (sopravvivenza mediana 6 mesi) benché non siano eccezionali anche sopravvivenze di alcuni anni con decorso relativamente indolente. La LP-T ha invece decorso nettamente aggressivo ed esito rapidamente infausto, per quanto si ottenga talora qualche risposta favorevole con il Pentostatin®.

Per la terapia e la prognosi della *tricoleucemia* (HCL) e della *leucemia plasmacellulare* (LPC) si rimanda alle relative voci (v. TRICOLEUCEMIA*; PLASMOCITOMA*).

Le forme di *LLC/LGL* presentano decorso relativamente favorevole e vanno trattate come LLC-B classiche.

La *leucemia/linfoma a cellule T dell'adulto* (ATL) ha prognosi molto severa, peggiore di quella presentata da altri linfomi a B cellule aggressivi ed in fase avanzata, anche se trattata con protocolli di CT di terza generazione. Nel 68% dei casi tuttavia sono state ottenute di recente risposte favorevoli alla CT (19% di sopravvivenza a 4 anni) ricorrendo ai protocolli VEPA (vincristina 1 mg/m$^2$ e. v. una volta la settimana per 6 settimane; ciclofosfamide [Endoxan®] 350 mg/m$^2$ in infusione lenta una volta la settimana per 6 settimane; adriamicina [doxorubicina] 40 mg/m$^2$ e. v. in infusione lenta nei giorni 1 e 22; prednisolone 40 mg/m$^2$ *per os* nei primi tre giorni di ogni settimana) e VEPA-M (al VEPA si aggiunge metotrexato 30 mg/m$^2$ e. v. nei giorni 1 e 22): se dopo un ciclo si raggiunge remissione completa, si prosegue con le prime due settimane del protocollo, ripetute ogni 4-6 settimane fino a raggiungere la dose totale di doxorubicina di 400 mg/m$^2$ e continuando poi senza la doxorubicina per almeno due anni. In caso di sola remissione parziale, si può ripetere un ciclo completo.

Per la *sindrome di Sézary*, v. MICOSI FUNGOIDE; SÉZARY, SINDROME DI.


**Bibliografia**

Bassan R., Rambaldi A., Barbui T., *Haematologica*, 1989, **74**, 85.
Binet J. L. *et al.*, *Br. J. Haematol.*, 1981, **48**, 365.
Carlsson M. *et al.*, *Blood*, 1988, **71**, 415.
Catovsky D., *Chronic lymphocytic, prolymphocytic, and hairy cell leukemias*, in Goldman J., Preisler H. D. eds., *Butterworths International Medical Reviews. Haematology I. Leukaemia*, 1984, Butterworth, London.
Cawley J. C. *et al.*, *Leuk. Res.*, 1980, **4**, 547.
Foon K. A., Gale R. P., *Semin. Hematol.*, 1987, **24**, 264.
Forbes I. J., Leong S.-Y., *Essential Oncology of the Lymphocyte*, 1987, Springer, Berlin.
French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukemia, *Semin. Hematol.*, 1987, **24**, 275.
Gale R. P., Foon K. A., *Semin. Hematol.*, 1987, **24**, 209.
Han T. *et al.*, *Semin. Hematol.*, 1987, **24**, 257.
Internat. Workshop on CLL (Binet J. L., Catovsky D., Chandra P. *et al.*), *Br. J. Haematol.*, 1981, **48**, 365.
Mandelli F. *et al.*, *J. Clin. Oncol.*, 1987, **5**, 398.
Melo J. V., Catovsky D. *et al.*, *Br. J. Haematol.*, 1987, **65**, 23.
Orfao A., Gonzalez M., San Miguel J. F. *et al.*, *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 1988, **46**, 177.
Rai K. R., Montserrat E., *Semin. Hematol.*, 1987, **24**, 252.
Torelli V. *et al.*, *Biologia molecolare delle leucemie e dei linfomi*, 1989, USES, Firenze.


CARLO MAURI

## CHIRURGIA NELLE LEUCEMIE

SOMMARIO



Il ruolo del chirurgo nel trattamento delle l. si esplica diversamente a seconda che si tratti di forme croniche o acute: nelle croniche, la chirurgia è *d'elezione* e consiste unicamente nella *splenectomia*; nelle acute è *d'urgenza* ed è chiamata a rispondere alle *complicanze gastrointestinali*.

### Chirurgia d'elezione

La splenectomia è indicata soltanto in alcuni pazienti, negli stadi avanzati delle l. croniche, per la risoluzione di gravi sintomi non controllabili con la chemioterapia.

#### *Leucemia mieloide cronica*

In questa indicazione la splenectomia è legata alla splenomegalia dolorosa e compressiva. Si tratta, in questi casi, di chiare motivazioni «sintomatiche», ingravescenti man mano che la malattia avanza. La splenomegalia può essere responsabile di dolori infartuali, di un ingombro addominale e di un'ipertensione portale con varici esofagee, quando addirittura non sfoci in un'indicazione d'urgenza per ascessualizzazione postinfartuale o per emoperitoneo da rottura splenica spontanea o per microtraumi. L'esperienza dei grandi Centri specialistici dimostra che una splenectomia eseguita in queste condizioni è sempre preferibile alla rinunzia operatoria. Ad es., Wilson *et al.* (1985) hanno splenectomizzato, con queste indicazioni, 50 pazienti, pari al 15% dei portatori di disordini mieloproliferativi da loro osservati, con il costante risultato di una rapida regressione della sintomatologia.

#### *Leucemia linfatica cronica*

Indicazioni analoghe si hanno nelle forme linfoidi, ove la rimozione della milza è sostanzialmente da considerare come una terapia «adiuvante» di forme resistenti alla chemioterapia. Ad es., Pegouric *et al.* (1987) hanno sottoposto



Digitized by Google

a splenectomia 43 dei loro 231 pazienti con l. linfoide cronica «aggressiva», non rispondenti alla chemioterapia: la splenectomia s'è rivelata vantaggiosa anche sulla sopravvivenza, rispetto ai non-splenectomizzati. Tali risultati non sono stati ottenuti in altre casistiche, in cui la splenectomia non ha influito sulla sopravvivenza, anche se ha prodotto un miglioramento clinico ed ematologico (Ferrant *et al.*, 1986; Delpero *et al.*, 1987).

*Tricoleucemia (leucemia a cellule capellute, hairy cell leukemia)*

In questa rara forma (2% delle l.) la splenomegalia costituisce una caratteristica costante. Per questi motivi la rimozione della milza ha assunto in passato un ruolo terapeutico di prima scelta. Attualmente il trattamento con interferone risulta altamente efficace per cui soltanto eccezionalmente si esegue la splenectomia, come in casi di spiccata splenomegalia.

*Mielofibrosi con metaplasia mieloide agnogenica (mielofibrosi idiopatica)*

Anche in questa forma la splenectomia è utile a scopo sintomatico (disturbi da compressione o dolore infartuale da imponente splenomegalia) o per refrattarietà all'irradiazione splenica o per ipertensione portale (Stipa, 1985).

**Chirurgia d'urgenza**

Le urgenze chirurgiche riguardano solo eccezionalmente, come s'è visto, le l. croniche, per rottura o ascessualizzazione della milza, mentre incidono per il 3-9% nelle l. acute per complicanze gastrointestinali perforative, emorragiche o infettive. In questi casi l'intervento non si differenzia rispetto alle analoghe urgenze nei non-leucemici, tranne che per il maggior rischio legato alla grave malattia di base.

I meccanismi di «addome acuto» sono talora indotti dall'infiltrazione pseudotumorale del ricco tessuto linfatico dell'apparato digerente (specie all'ileo, appendice e colon), con tendenza all'ulcera emorragica o alla perforazione. Un altro meccanismo perforativo si ha per l'insorgere di *enteriti necrosanti*, da superinfezioni antibiotico-resistenti della flora intestinale (candida e anaerobi). Importanti fattori concausali sono la leucopenia e la piastrinopenia indotte da una intensa chemioterapia.

La perforazione può avvenire in peritoneo libero o formare un ascesso addominale, e la sede più frequente è il cieco («tiflite» e gangrena da anaerobi), per la maggior ricchezza di tessuto linfatico specie in età pediatrica; altre volte l'emorragia o la perforazione avvengono nello stomaco, favorite dalla terapia cortisonica. Un'altra rara complicanza è stata osservata a causa di alcuni antiblastici (ad es. la vincristina) particolarmente lesivi sul metasimpatico, con grave megacolon e megaesofago (Hunter *et al.*, 1984; Hawkins *et al.*, 1985; Storti *et al.*, 1988).

Per la diagnosi, il quadro clinico di «addome acuto» induce di per sé all'urgenza. Tuttavia, è comune prassi eseguire una radiografia diretta dell'addome, un'ecografia e, se occorre, una T.A.C. Per l'ascesso, è stato suggerito l'esame scintigrafico con radio-gallio; per l'emorragia, l'eventuale arteriografia. L'esito dell'intervento è fortemente condizionato dalla diagnosi precoce e dalla migliore reintegrazione possibile dei deficit ematologici (trasfusioni e piastrine) nell'immediato preoperatorio e nel corso dell'intervento. La tempestiva esplorazione addominale e l'intensa terapia postoperatoria hanno ridotto recentemente la mortalità a breve termine, che in alcune casistiche è scesa dal 50 al 30-15% (Dewar *et al.*, 1985; Hawkins *et al.*, 1985; Starnes *et al.*, 1986). È da tener presente, però, che la prognosi è di gran lunga peggiore nelle forme pediatriche, in cui la complicanza gastrointestinale è da considerare un evento preterminale (Nagler *et al.*, 1985).

**Bibliografia**


Bishop J. F. *et al.*, *Am. J. Haemat.*, 1987, **26**, 147.
Coser P. *et al.*, *Acta Haemat.*, 1985, **74**, 116.
Delpero J. R. *et al.*, *Cancer*, 1987, **59**, 340.
Dewar G. J. *et al.*, *Can. J. Surg.*, 1985, **24**, 67.
Di Matteo G., *Arch. e Atti 84° Congresso Soc. Ital. Chirurgia, Roma, 1982*, vol. I (Relaz.).
Ferrant A. *et al.*, *Cancer*, 1986, **58**, 2130.
Golomb E. *et al.*, *Ann. Intern. Med.*, 1978, **89**, 677.
Grieco A. *et al.*, *Am. J. Med.*, 1988, **84**, 797.
Hawkins J. A. *et al.*, *Am. J. Surg.*, 1985, **150**, 739.
Hunter T. B. *et al.*, *A.J.R.*, 1984, **142**, 513.
Jacobs P. *et al.*, *Br. J. Surg.*, 1987, **74**, 1169.
Jansen J. *et al.*, *Cancer*, 1981, **47**, 2006.
Nagler A. *et al.*, *Curr. Surg.*, 1985, **42**, 365.
Pegourie B. *et al.*, *Cancer*, 1987, **59**, 1626.
Starnes H. F. *et al.*, *Cancer*, 1986, **57**, 616.
Stein R. S. *et al.*, *Cancer*, 1987, **59**, 1815.
Stipa V., *Arch. e Atti 87° Congresso Soc. It. Chirurgia, Torino, 1985*, vol. I (Relaz.).
Storti S. *et al.*, *It. J. Surg. Sci.*, 1988, **18**, 361.
Towell B. *et al.*, *Am. J. Med.*, 1987, **82**, 371.
Wilson R. E. *et al.*, *World J. Surg.*, 1985, **9**, 431.


FILIPPO ASOLE

**LEUCOCIDINE** [v. vol. VIII, col. 1642]

---

**Errata-corrige**

Alla riga 6ª dall'alto della col. 1642, *corrige* enterossina in enterotossina.

---

**LEUCODISTROFIA METACROMATICA**: v. LEUCODISTROFIA METACROMATICA (VIII, 1647); LEUCODISTROFIE*; LIPIDOSI (VIII, 2115).

**LEUCODISTROFIE** [v. vol. VIII, col. 1650]

I risultati più recenti sulle *leucodistrofie* concernono nuove acquisizioni sulle loro basi biochimiche, alcune variazioni nosografiche e, infine, le possibilità terapeutiche offerte in qualche caso dal trapianto di midollo osseo.

Secondo la definizione di l. proposta nell'Enciclopedia, tra le l. propriamente dette non erano contemplate le forme dovute a un disturbo metabolico sistemico. L'adrenoleucodistrofia, malattia compresa nel precedente lemma e caratterizzata da un accumulo generalizzato di acidi grassi a catena molto lunga, sulla base di recenti osservazioni (Singh *et al.*, 1984; Moser *et al.*, 1984; Kelley *et al.*, 1986; Wanders *et al.*, 1988) è da considerarsi una malattia dismetabolica, appartenente, al pari della sindrome cerebroepatorenale di Zellweger e della malattia di Refsum, al ristretto gruppo delle malattie dei perossisomi. Nell'adrenoleucodistrofia, infatti, l'alterato metabolismo e relativo accumulo degli acidi grassi a catena molto lunga (C24-C30) consegue a un deficit enzimatico a livello dei perossisomi, le vescicole citoplasmatiche legate alla membrana e ricche di enzimi che formano e utilizzano il perossido d'idrogeno; tale deficit può essere totale, come nella più grave forma «neonatale», a trasmissione autosomica recessiva, oppure parziale (deficit di acil-CoA-sintetasi perossisomale) come nella forma «infantile», la più frequente, e nell'adrenomieloneuropatia, entrambe a trasmissione legata al cromosoma X.

Tutte sono quasi sempre associate a più o meno grave insufficienza corticosurrenalica, che, peraltro, può anche rappresentare l'unica manifestazione della malattia. Inoltre, il deficit enzimatico è presente in misura proporzionale





Digitized by Google

anche nelle donne eterozigoti nelle quali, sebbene raramente, può manifestarsi come sofferenza del sistema nervoso periferico.

Per quanto riguarda, invece, le l. propriamente dette, cioè le *l. ortocromatiche* e *fibrinoidi*, malattie molto rare, in questi ultimi anni ne sono stati identificati pochi nuovi casi; nonostante i progressi delle tecniche diagnostiche, essi non aggiungono nulla sulla etiopatogenesi delle malattie, a tutt'oggi ancora sconosciuta. Di recente, sono stati descritti 4 casi di *l. ortocromatica* con pigmento siderofilo nell'adulto (Gray *et al.*, 1987; Belec *et al.*, 1988; Okeda *et al.*, 1989), una forma tanto rara che, dall'originale descrizione di Van Bogaert e Nyssen del 1936, ne sono stati riportati in tutto solo 14 casi. L'indagine biochimica mostrava, come dato più saliente, un'alterazione del profilo fosfolipidico con un aumento abbastanza significativo dei *plasmalogeni* (Gray *et al.*, 1987); si tratta di gliccrofosfolipidi abbondanti nel sistema nervoso il cui aumento era da imputarsi, probabilmente, a una anormale regolazione della loro sintesi a livello perossisomale. Lo studio al microscopio elettronico evidenziava negli astrociti, negli oligodendrociti e nei macrofagi della sostanza bianca inclusioni lamellari intracitoplasmatiche, delimitate da membrana, con arrangiamento curvilineo, strettamente parallelo e a impronta digitale, dalle caratteristiche molto simili alla ceroide-lipofuscina presente nelle varie forme di ceroido-lipofuscinosi, dalla quale differisce solo per il mancato interessamento delle cellule neuronali. Simili inclusioni sono state osservate nella *sclerosi spongiosa* (o malattia di Canavan) e nella *l. tipo Lowenberg-Hill* (Bruyn *et al.*, 1985), localizzate esclusivamente all'interno degli oligodendrociti, autorizzando l'ipotesi, per tale ultima malattia, di un disordine primario di frazioni subcellulari oligodendrogliali. Soffer *et al.* (1979) hanno avanzato l'ipotesi che la *l. tipo Pelizaeus-Merzbacher* e le altre l. a essa correlate siano da considerarsi delle forme incomplete o abortive della *l. tipo Cockaine*, vista la frequente associazione di queste malattie ad altri disturbi geneticamente determinati, quali dismorfismi somatici e cerebrali, che trovano la loro massima espressione appunto nella forma di Cockaine. Questa teoria, finora, non è però stata supportata da ulteriori indagini.

Per quanto concerne la *l. metacromatica*, studi recenti suggeriscono per le 3 forme cliniche (infantile, giovanile e dell'adulto) basi genetiche in qualche modo diverse. Il gene responsabile della carenza di arilsulfatasi A, carenza responsabile della malattia, esisterebbe in due forme alleliche, A e 1. La forma infantile della malattia sarebbe associata all'omozigosi 1, quella dell'adulto all'omozigosi A, mentre la forma giovanile potrebbe essere legata all'omozigosi A o, più spesso, alla presenza di entrambi gli alleli (Poulten *et al.*, 1991).

Per quanto concerne, infine, le possibilità terapeutiche, di recente nella *l. metacromatica* è stato tentato il trapianto di midollo osseo (Krivitt *et al.*, 1990); i risultati paiono incoraggianti, considerato che è stata rallentata la progressione della malattia e che la RMN ha mostrato una parziale normalizzazione delle alterazioni patologiche all'interno dei tessuti. Occorrerà, peraltro, attendere del tempo per valutare la reale utilità e le possibilità di questa terapia nel lungo periodo (Menkes, 1990).

**Bibliografia**

Belec L., Gray F., Louarn F. *et al.*, *Rev. Neurol.*, 1988, **144**, 347.
Bruyn G. W., Weenink H. R., Bots G. T. A. M. *et al.*, *Acta Neuropathol.*, 1985, **65**, 177.
Gray F., Destee A., Bourre J. M. *et al.*, *J. Neurop. Exper. Neurol.*, 1987, **46/5**, 585.
Kelley R. I., Datta N. S., Dobjins W. S. *et al.*, *Am. J. Med. Genet.*, 1986, **23**, 869.
Krivitt W. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1990, **322**, 28.
Menkes J. H., *N. Engl. J. Med.*, 1990, **322**, 54.
Moser H. W., Moser A. E., Singh I. *et al.*, *Ann. Neurol.*, 1984, **16**, 628.
Okeda R., Matsuo T. *et al.*, *Acta Neuropathol.*, 1989, **78**, 533.
Poulten M. S. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1991, **324**, 18.
Singh I., Moser A. B. *et al.*, *Pediatr. Res.*, 1984, **18**, 286.
Soffer D., Grotsky H. *et al.*, *Ann. Neurol.*, 1979, **6**, 340.
Wanders R. J. A., Hayemans H. S. A. *et al.*, *J. Neurol. Sci.*, 1988, **88**, 1.

GUIDO PALLADINI E LUIGI CALANDRIELLO

**LEUCOENCEFALITE PROGRESSIVA MULTIFOCALE**: v. ENCEFALITI*; LENTIVIRUS*.

**LEUCOPLASIA** [v. vol. VIII, col. 1661]

SOMMARIO



**Definizione**

Secondo la recente classificazione di Pindborg, adottata dall'OMS, si intende per *leucoplasia* qualsiasi chiazza biancastra delle mucose che non possa essere rimossa con lo strofinamento e che non rientri nel quadro di una dermatosi nota. Tale definizione, come si può notare, prescinde dagli aspetti istologici, spesso indipendenti dal quadro clinico, e non implica un giudizio prognostico.

**Etiologia**

L'etiologia della l. è multipla: i vari fattori, singoli o associati, agiscono dall'esterno e/o dall'interno a seconda delle varie sedi. Al cavo orale sono più evidenti i fattori esterni: il fumo, specie con sigarette o bocchini tenuti nella stessa posizione fra le labbra, perché la temperatura aggrava gli effetti lesivi locali; le irregolarità dentarie o radicolari o delle protesi; il digrignamento o la masticazione abituale di gomme.

Più difficile l'imputazione a fattori esterni per le localizzazioni genitoanali, se manca un riferimento anamnestico. Fra le infezioni, la lue non curata o insufficientemente curata si ha oggi solamente nei paesi sottosviluppati.

Più attuale il ruolo delle infezioni croniche da *Candida albicans* o da *Herpesvirus* (soprattutto dei tipi 11 e 16) specie in soggetti defedati e immunodepressi.

Negli ultimi anni sono aumentate le l., specie orali e con aspetto villoso (*hairy leukoplakia*), nei pazienti affetti da AIDS in avanzata evoluzione. Cfr. a tal proposito il capitolo *leucoplachia villosa* nella voce GLOSSITI*. A loro volta le infezioni locali sono favorite dai traumi. Più difficile la valutazione dei fattori tossici e/o dismetabolici, sempre presenti nella senilità, e che spiegano la maggiore frequenza delle l. dopo il 40° anno di età.

**Anatomia patologica**

L'aspetto bianco-grigiastro delle chiazze leucoplasiche è dovuto all'idratazione dello strato corneo ispessito e polistratificato. L'aumento dello spessore e della consistenza è legato alla polistratificazione del malpighiano e del corneo, all'allungamento delle creste epidermiche e all'infiltrato rotondocellulare sottostante. Manca un rapporto utilizzabile fra quadro obiettivo e quadro istologico, tranne che nelle fasi avanzate.

Nelle l., indipendentemente dalla localizzazione, sono evidenti istologicamente: l'ipercheratosi, la paracheratosi e l'acantosi di grado variabile. Nella sottomucosa si osserva un infiltrato cronico flogistico, specie perivasale, in cui prevalgono i linfociti.

Nei quadri che dimostrano anaplasia *in situ* è più marcata l'ipercheratosi e l'acantosi presenta pleomorfismo e atipie nucleari. Ne-





Digitized by Google

gli stadi più avanzati si osserva la perdita di polarità delle cellule del malpighiano, accanto a cellule discheratosiche per prematura e abnorme cheratinizzazione. Si ha, inoltre, un aspetto stipato dei nuclei nello strato basale e una accentuata proliferazione irregolare, verso il basso, delle creste epidermiche, modificate anche nella loro forma.

**Sintomatologia**

Nel cavo orale, la localizzazione di gran lunga più frequente è quella geniena, per lo più unilaterale (asimmetrica se ad estensione bilaterale) a livello del terzo anteriore della linea di occlusione dei denti e iuxtacommissurale. Le chiazze sono poligonali, da uno a parecchi cm di diametro, a limiti netti, di colorito bianco-grigiastro, a superficie liscia o zigrinata, ad acciottolato o verrucosa. In un terzo circa dei casi, e specie in sede iuxtacommissurale, si apprezza un aumento di consistenza variabile, per infiltrazione o iniziale trasformazione, con fissurazione o ulcerazione anche minima, centrale. Tutte le zone di aumentata consistenza rendono d'obbligo l'esame istologico, meglio se su sezioni seriate.

Al palato duro le chiazze sono molto rare, poligonali e lisce per l'attrito del bolo.

Sulla faccia inferiore della lingua (v. anche: GLOSSITI*; LEUCOPLASIA, VIII, 1661, fig. 1) e sul pavimento buccale le chiazze sono più irregolari ed estese, uniformi, a limiti netti, bianco-lucenti, più porcellanacee che madreperlacee, appena rilevate, e si stagliano molto nettamente sulla mucosa circostante. L'infiltrazione è più diffusa, e poiché non sono avvertite, e si presentano all'osservazione tardivamente, la loro trasformazione è più frequente e più temibile.

Sulla faccia dorsale della lingua, le chiazze possono essere anche molto estese (fino a ricoprire il dorso della lingua quasi completamente), sono uniformi, a limiti netti e hanno, in prevalenza, aspetto ad acciottolato.

Sulle gengive, papillari o fisse, e sulle creste divenute edentule, le chiazze sono molto meno frequenti, di precoce osservazione e, quindi, meno pericolose.

Alla vulva sono colpite, in ordine decrescente, le grandi labbra alla faccia interna, le piccole labbra, la forchetta, il cappuccio del clitoride, il clitoride e la vagina presso l'ostio. I limiti sono discretamente netti, il colorito varia dal bianco-grigiastro al bianco-giallastro. Queste localizzazioni delle l. sono più frequenti nelle donne obese o leucorroiche. Nell'uomo, al glande del pene e alla faccia interna del prepuzio le chiazze leucoplasiche presentano caratteri analoghi e sono più frequenti e temibili nei fimotici. All'ano le chiazze si trovano sul contorno, in singole zone, e sono piuttosto ben delimitate.

**Diagnosi differenziale**

Nel cavo orale, il *lichen planus*, con o senza aspetti erosivi, in assenza di manifestazioni cutanee, può offrire notevoli difficoltà diagnostiche. Esso può essere distinto dalle l. perché predilige i due terzi posteriori della mucosa geniena, le chiazze sono più spesso bilaterali, anche se di differente grandezza, la mucosa circostante presenta in alcune aree, a volte molto piccole, la caratteristica sfumatura lilla. Nel *lichen planus* con aspetti erosivi, questi ultimi sono evidenti e su questo sfondo le piccole papulette sono disposte una accanto all'altra per assumere non tanto l'aspetto di una chiazza biancastra o bianco-grigiastra, quanto quello di filamenti dendritici, a reticolo, con aspetti di foglia di felce, figurati, policiclici fino ad anulari.

Alla vulva, l'eritroplasia di Queyrat è rarissima, per lo più unilaterale, le chiazzette leucoplasiche sono disseminate su una superficie continua rosso-cupa, liscia lucente, vellutata. La diagnosi differenziale si deve porre più spesso con il *lichen* scleroatrofico che è molto diffuso (nel 60% delle donne in menopausa). Va tenuto in proposito presente che questa forma di *lichen* coinvolge nel tempo tutta la superficie dei genitali, porta alla precoce scomparsa delle piccole labbra, fa divenire l'ostio stenotico e fissurato, si associa a dispareunia, senso di secchezza e, nel 90% dei casi, a prurito. Nel tempo può trasformarsi in l. spesso ribelle alle terapie.

Le stesse diagnosi differenziali vanno poste per i genitali maschili, con l'aggiunta della balanite o balanopostite sclerotica obliterante nella quale le chiazze sono meno biancastre e più grigiastre e prediligono la sommità del glande estendendosi al meato e, perifericamente, al glande stesso, al solco coronarico e alla superficie interna del prepuzio. Generalmente più frequente in soggetti con prepuzio lungo, può a volte insorgere anche in circoncisi tardivi e tende sempre a determinare la stenosi uretrale. All'ano la diagnosi differenziale si deve porre con il *lichen* scleroatrofico e con la neurodermite, le cui chiazze sono in genere più piccole e sempre intensamente pruriginose.

Nella fase ulcerativa la l. deve essere differenziata: nel cavo orale, dalle ulcerazioni del *lichen* erosivo, della tbc ulcerosa, della sifilosclerosi e del carcinoma orale; ai genitali e all'ano, con la tbc ulcerosa e con il carcinoma.

**Prognosi**

È molto diversa, nelle varie sedi. Nel cavo orale è peggiore alla faccia inferiore della lingua e al pavimento buccale con possibilità di trasformazione neoplastica in oltre il 30% dei casi, mentre nelle altre aree si scende al 4%. Ai genitali e all'ano la trasformazione neoplastica è del 10% circa.

**Terapia**

L'impiego dell'ac. 13-*cis*-retinoico per pennellature quotidiane è senz'altro utile per differenziare le l., che in genere regrediscono entro un mese, ma la regressione è spesso seguita dalla recidiva. Alcuni studi controllati (Hong *et al.*, 1986) hanno dimostrato che nel trattamento delle l. stomatologiche l'ac. 13-*cis*-retinoico risulta efficace anche per via orale (alla dose di 1-2 mg/kg/*die* per 3 mesi). Gli effetti indesiderati di ordine generale sono peraltro non trascurabili e costringono talora ad interrompere il trattamento.

Se si manifesta la tendenza alla recidiva o quando le chiazze leucoplasiche sono estese o infiltrate, anche minimamente, è senz'altro preferibile, come misura di prevenzione oncologica, la completa escissione della zona infiltrata. Solamente questa operazione, infatti, permette un completo studio istologico, eventualmente su sezioni seriate. Per le aree estese sono indicate la decorticazione chirurgica o l'escissione a piatto le quali, malgrado tutte le possibili attenzioni, sono a volte seguite da recidive che obbligano al reintervento, specie nelle localizzazioni genitali femminili. Uno scrupoloso *follow-up* non deve mai essere omesso.

**Bibliografia**

Fitzpatrick T. B., Eisen A. Z., Wolf K. *et al.*, *Dermatology in General Medicine*, 1986, McGraw-Hill, New York.
Hong W. K. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1986, **315**, 1501.
Lever W. F., Schaumburg-Lever G., *Hystopatology of the Skyn*, 1990, Lippincott, Philadelphia.
Maddin S., *Current Dermatologic Therapy*, 1982, Saunders, Philadelphia.
Pindborg I. J., *Atlas of Diseases of the Oral Mucosa*, 1986, Saunders, Philadelphia.
Ridley C. M., *The Vulva*, 1977, Saunders, Philadelphia.
Rook A., Wilkinson D. S., Ebling F. J., *Textbook of Dermatology*, 1986, 4 ed., Blackwell, Oxford, p. 2108.
Saurat J. H. *et al.*, *Précis de Dermatologie et Vénereologie*, 1987, Masson, Paris.
Tyldesley W. R., *Oral Medicine*, 1989, Oxford Medical Publications, Oxford.

GIOVANNI E. VALENZANO




Digitized by Google

## LEUCOTRIENI

F. *leukotriènes*. - I. *leukotrienes*. - T. *Leukotrienen*.

I leucotrieni [LT] sono un gruppo di sostanze che si forma, attraverso la via lipossigenasica, a partire da acidi grassi polinsaturi a 20 atomi di carbonio, il più rappresentato dei quali è l'ac. arachidonico, normale costituente dei fosfolipidi di membrana.

I numerosi derivati dell'ac. arachidonico prendono il nome di *eicosanoidi* di cui se ne distinguono 3 gruppi (fig. 1):

a) *prostanoidi* (prostaglandine [PG] e trombossani [TX]), formati attraverso la via della ciclossigenasi (aspirina-sensibile) (v. PROSTAGLANDINE, XII, 1157; PROSTAGLANDINE*);

b) *epossidi*, sintetizzati attraverso la via epossigenasica del citocromo P-450;

c) LT e alcuni mono- di- e tri-idrossiacidi (HETE), nonché le lipossine, che si formano attraverso la via della lipossigenasi.

Nelle cellule di mammifero esistono tre diverse lipossigenasi, di cui la più importante è la 5-lipossigenasi, costituita da una singola catena polipeptidica di 75.000-80.000 d, anionica a pH neutro. Questo enzima catalizza i primi due passaggi della biosintesi dei LT, ovvero la conversione di ac. arachidonico in ac. 5-idroperossieicosatetraenoico (5-HPETE) (instabile in mezzo acquoso, per cui tende a degradarsi spontaneamente in 5-HETE), e la idratazione di 5-HPETE in $LTA_4$, che è un epossido intermedio, instabile, punto di partenza per la formazione degli altri leucotrieni.

Il $LTA_4$ viene convertito, a opera di una idrolasi, in $LTB_4$, oppure, mediante una glutatione-S-transferasi, viene convertito per aggiunta di glutatione, in $LTC_4$. Da quest'ultimo, per eliminazione di un residuo glutamilico, si ottiene il 6-cisteinil-glicil-analogo, $LTD_4$, che, a sua volta, viene convertito per eliminazione di un residuo di glicina nel suo 6-cisteinil-analogo $LTE_4$.

È stato descritto un $LTF_4$, ma nell'uomo non è stata identificata la via enzimatica relativa alla sua formazione.

La *sostanza a reazione lenta dell'anafilassi* (SRS-A), già da lungo tempo descritta, non è altro che una miscela di $LTC_4$, $LTD_4$ e $LTE_4$ (v. ANAFILASSI*). Questi tre LT sono anche definiti sulfidopeptidici, o contenenti cisteinile, in quanto contengono un peptide tioetere in posizione 6. Si distinguono in tal modo dal derivato diidrossido $LTB_4$, che ha funzioni solo in parte sovrapponibili.

Il sistema enzimatico 5-lipossigenasico viene attivato dagli stimoli più diversi, e ha una regolazione molto complessa, multifattoriale, che coinvolge $Ca^{2+}$, ATP e almeno tre fattori non dializzabili.

I LT vengono prodotti *de novo* in risposta a numerosi stimoli, biologici, fisici e chimici che facilitano il rilascio di ac. arachidonico dalle membrane e attivano la via 5-lipossigenasica; tra questi, le reazioni antigene-anticorpo, il PAF (*Platelet-Activating Factor*), il polipeptide chemiotattico (FMLP), l'anafilotossina derivata dal C5a, il calcioionoforo A23187.

Numerosi tessuti e tipi cellulari sono in grado di produrre LT. A livello polmonare, mastociti, basofili, eosinofili, macrofagi alveolari e, in diverse specie animali, anche le cellule epiteliali polmonari, sono in grado di produrre LT. A livello periferico, polimorfonucleati, monociti ed eosinofili possono, se stimolati, produrre LT. Mastociti, eosinofili e basofili producono prevalentemente cisteinil-LT mentre macrofagi e polimorfonucleati producono quasi esclusivamente $LTB_4$. I monociti periferici, se stimolati, sintetizzano $LTB_4$ e $LTC_4$. Negli individui asmatici, gli eosinofili assumono un particolare fenotipo detto «ipodenso», che possiede una maggiore attività lipossigenasica e produce $LTC_4$ in quantità tre volte maggiore rispetto ai non asmatici.

I LT si formano anche a livello del S.N.C., soprattutto nell'ipotalamo e nell'eminenza mediana, dove si ha la massima produzione di $LTC_4$, coesistente con l'LHRH. Ciò sta a suggerire un possibile ruolo neuroendocrino di questo LT.

I cisteinil-LT ($LTC_4$, $LTD_4$ e $LTE_4$), che vengono prodotti soprattutto a livello polmonare, hanno come *target* la muscolatura liscia. Agendo con meccanismo diretto, essi provocano broncospasmo con una potenza che è fino a 1000 volte quella dell'istamina (soprattutto $LTD_4$ e $LTC_4$). Essi stimolano inoltre la produzione di muco più abbondante e viscoso e una dilatazione venulare con aumento della permeabilità. Nei soggetti normali questa risposta prevale a carico delle vie aeree più periferiche, mentre nei soggetti asmatici c'è una iperattività generalizzata di tutto l'albero respiratorio.

Sul sistema cardiovascolare, i LT cisteinilici provocano, dopo una fase ipertensiva da spasmo arteriolare generalizzato, uno stato ipotensivo di lunga durata, verosimilmente come conseguenza dello stravaso plasmatico dal microcircolo e per riduzione della contrattilità miocardica e del flusso coronarico.

Nei bronchi con 2-4 mm di diametro, sembra essere presente una sola classe di recettori per i cisteinil-LT. Per il $LTC_4$, in particolare, esiste un sito di legame stereospecifico ma non-recettoriale, verosimilmente identificabile con la glutatione-S-transferasi, nel suo sito catalitico; il $LTD_4$, invece, possiede un recettore specifico, $Ca^{2+}$-dipendente e GPT-dipendente, limitato al tessuto polmonare. Il $LTE_4$ ha un sito di legame analogo a quello per il $LTD_4$, ma con minore affinità.

Il $LTB_4$ ha un'azione fondamentalmente proinfiammatoria (v. INFIAMMAZIONE*); esso favorisce l'adesione e la chemiotassi dei leucociti, stimola l'aggregazione, il rilascio di enzimi e la produzione di superossidi nei neutrofili. Tra i leucociti sono particolarmente suscettibili i polimorfonucleati, che sono anche i principali produttori di $LTB_4$; ciò può talora innescare un circuito «riverberante» che, agendo sinergicamente con altri fattori chemiotattici come il C5a, può contribuire a mantenere la flogosi in alcune patologie infiammatorie articolari.

Il $LTB_4$ aumenta la permeabilità vasale, ma in via indiretta, come conseguenza della attivazione e della diapedesi leucocitaria. A livello della membrana dei polimorfonucleati sono presenti i recettori stereospecifici per $LTB_4$, che sono di due tipi: a bassa densità e alta affinità, e ad alta densità e bassa affinità. I recettori a bassa affinità mediano la degranulazione e il meccanismo ossidativo, mentre quelli ad alta affinità mediano chemiocinesi e chemiotassi, con un meccanismo $Ca^{2+}$-dipendente.

Lo stimolo più importante per il rilascio di $LTB_4$ *in vitro* è il calcio-ionoforo A23187. Recentemente, è stato dimostrato il rilascio di $LTB_4$ da polimorfonucleati come sequenza terminale della attivazione del complemento, e ciò potrebbe suggerire un possibile ruolo di questo LT in alcune patologie autoimmuni. L'inoculazione intradermica di concentrazioni molto basse di LT sulfidopeptidici provoca reazione pomfoide, broncospasmo, aumento di produzione di muco e aumentata irrorazione nasale. Anche il $LTB_4$, inettato sottocute, causa reazioni pomfoidi, oltre a provocare i già citati effetti chemiotattici e di degranulazione sulle cellule infiammatorie e alterazioni della permeabilità vasale.

Sebbene alla luce delle attuali conoscenze sembri che il ruolo fondamentale dei LT sia nell'ambito delle reazioni infiammatorie e nella patogenesi dell'asma bronchiale, sono in corso numerosi studi per documentare l'intervento dei vari eicosanoidi in diverse condizioni fisiologiche e patologiche.



Digitized by Google

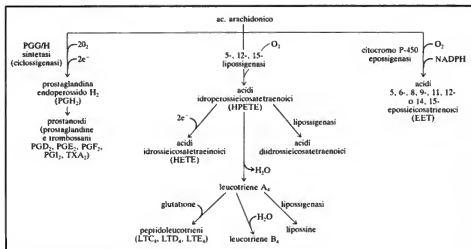



Fig. 1. Principali derivati del metabolismo dell'ac. arachidonico.

Nello shock endotossico, o settico, è stato dimostrato l'incremento di alcuni derivati dell'ac. arachidonico (soprattutto $TXB_2$ e 6-keto-$PGF_{1\alpha}$), e studi sperimentali mostrano un effetto positivo degli inibitori o antagonisti dei LT nello shock settico o nei danni polmonari acuti a tipo ARDS (*Adult Respiratory Distress Syndrome*); in particolare, nel fluido edematoso polmonare di pazienti con ARDS è stato dimostrato un incremento del $LTD_4$. Ciò sta a significare che queste sostanze potrebbero avere un ruolo nel permeabilizzare i capillari polmonari in caso di edema polmonare conseguente a shock settico.

I prostanoidi hanno varie funzioni nella fisiologia e patologia epatobiliare, sia per quanto riguarda il flusso biliare che la funzione della colecisti (concentrazione della bile e contrattilità della parete). Meno chiaro è il ruolo dei LT, anche se sembra che *in vitro* questi derivati dell'ac. arachidonico siano dannosi per gli epatociti e per le vie biliari, a differenza delle PG che sono risultate citoprotettive. Epatociti isolati, in condizioni sperimentali, mostrano un aumento della produzione di $LTB_4$ se esposti a etanolo, il che potrebbe spiegare la flogosi epatica che si verifica nella epatite alcolica.

Alla luce dei dati sperimentali, appare oramai evidente che il ruolo fisiopatologico dei LT si esplica in diverse condizioni allergiche e infiammatorie (asma, rinite, artrite reumatoide, psoriasi, colite ulcerosa), di concerto con l'azione complessa e combinata di altri mediatori (istamina, chinine, serotonina, etc.).

Gli studi più recenti sono stati diretti all'identificazione di efficaci antagonisti della produzione di LT (inibitori selettivi della 5-lipossigenasi) o della loro azione in periferia (antagonisti recettoriali). L'efficacia evidente di tali farmaci nel prevenire e/o ridurre le risposte allergiche allo stimolo allergenico, specifico o aspecifico (asma da inalazione di aria fredda, o da esercizio fisico) pone le basi per un impiego futuro delle suddette molecole nella terapia di molte forme di atopia e/o flogosi.

Le molecole finora studiate mostrano una discreta selettività d'azione e una considerevole efficacia terapeutica.

Si è visto che l'impiego di inibitori della 5-lipossigenasi assunti in monodose *per os* è in grado di ridurre o ritardare il rilascio di LT nei fluidi corporei di pazienti con rinite allergica o asma bronchiale sottoposti a stimolazioni inducenti reazioni congestizie o broncostenotiche, senza tuttavia influenzare il rilascio di mediatori non dipendenti dalla via della 5-lipossigenasi (es. PG, TX o altri prodotti delle vie della cicloossigenasi o della 12-lipossigenasi).

L'uso di antagonisti recettoriali (antagonista del $LTD_4$), d'altro canto, si è dimostrato efficace nel ridurre il broncospasmo da sforzo in soggetti asmatici, senza tuttavia influenzare (in studi su modelli animali) la broncocostrizione indotta da istamina, acetilcolina, serotonina (il che sta ad indicare la selettività dell'azione antagonista).

Gli studi preliminari evidenziano comunque una notevole variabilità tra soggetto e soggetto nella risposta ai farmaci impiegati, e ciò sta a testimoniare, oltre ad una compartecipazione di altri mediatori nelle risposte allergiche ed infiammatorie ai diversi stimoli, anche la possibilità di una diversità nel metabolismo dei farmaci, di una variabilità della inibizione della 5-lipossigenasi da parte di farmaci diversi, di una eterogeneità del meccanismo principale di broncocostrizione nei diversi soggetti.

La migliore comprensione del ruolo fisiologico e patologico dei LT nonché lo sviluppo di farmaci mirati in grado di contrastarne la produzione e l'azione, permettono di aprire nuove prospettive terapeutiche per i pazienti asmatici, atopici o affetti da malattie infiammatorie croniche. Tuttavia, se si accetta l'esistenza di un ruolo fisiologico dei LT, occorre tener conto della possibilità che una inibizione a lungo termine della 5-lipossigenasi possa provocare effetti collaterali analoghi a quelli che si riscontrano con l'uso protratto degli inibitori della cicloossigenasi (ulcere gastriche, ipertensione, etc.).

**Bibliografia**

Ball H. A., Cook J. A., Wise W. C., Halushka P. V., *Intensive Care Med.*, 1986, **12**, 116.





Digitized by Google

Bel E. H., Van Der Veen H., Kramps J. A. *et al.*, *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1987, **136**, 979.
Black A. K. *et al.*, *J. Invest. Dermatol.*, 1990, **95**, 50.
Dahlen S. E., Kumlin M., Bjorck T. *et al.*, *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1987, **136** (Suppl.), S24-28.
Drazen J. M., Austen K. F., *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1987, **136**, 985.
Israel E., Dermarkarian R., Rosenberg M. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1990, **323** (25), 1740.
Kaminski D. L., *Gastroenterology*, 1989, **97**, 781.
Knapp H. R., *N. Engl. J. Med.*, 1990, **323** (25), 1745.
Laursen S. *et al.*, *Lancet*, 1990, **335**, 683.
Manning P. J., Watson R. M., Margolskee D. J. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1990, **323** (25), 1736.
McMillan R. M., Foster S. J., *Agents and Action*, 1988, **24** (1/2), 114.
Raulf M., Konig W., *Immunology*, 1988, **64**, 51.
Samuelsson B., Dahléo S. E., Lindgren J. A. *et al.*, *Science*, 1987, **237**, 1171.
Smith W. L., *Biochem. J.*, 1989, **259**, 315.
Stechschulte D. J., *N. Engl. J. Med.*, 1990, **323** (25), 1769.

STEFANIA FARINELLI E FRANCO DE ROSA

## LI-FRAUMENI, SINDROME DI

Rara sindrome ereditaria autosomico-dominante caratterizzata dalla presenza di tumori, eventualmente multipli, di origine mesenchimale, epiteliale o di altro genere in più membri della stessa famiglia. La prima descrizione del quadro venne fatta nel 1969 da Frederick Li e Joseph Fraumeni che avevano individuato 4 famiglie i cui membri, in generazioni diverse, erano stati affetti da sarcomi, carcinomi o altre neoplasie.

Nella famiglia A, un figlio (probando) aveva sviluppato un rabdomiosarcoma all'età di 1 anno, mentre, lungo la linea di discendenza paterna, il padre era deceduto di leucemia mieloide acuta e il nonno si era ammalato di due carcinomi cutanei; tra i parenti meno prossimi, almeno altre 8 persone, tra cugini e zii del probando, erano state colpite da neoplasie mammarie, pancreatiche, polmonari e della muscolatura liscia. Nella famiglia B, si erano ammalati di cancro 2 figli (sarcoma dei tessuti molli), la madre (carcinoma bilaterale della mammella) e, nella famiglia materna, un cugino (leucemia acuta mielocitica), una zia (carcinoma della mammella) e un oonno (carcinoma del pancreas). Nella famiglia C, due figli avevano sviluppato entrambi un sarcoma dei tessuti molli, mentre, lungo la linea paterna, il padre era deceduto per carcinoma disseminato basosquamoso, il nonno per sarcoma dei tessuti molli e nonna e bisnonna entrambe per carcinoma della mammella. Nella famiglia D, infine, un figlio aveva avuto all'età di 1 anno un rabdomiosarcoma ed era deceduto 5 anni più tardi per astrocitoma del tronco cerebrale; inoltre, si erano ammalati di cancro un fratello (rabdomiosarcoma), la mamma (carcinoma della mammella) e, nella famiglia materna, uno zio (sarcoma angioepiteliale), il nonno e il bisnonno (per i quali veniva riferito un «cancro del polmone»).

Secondo l'interpretazione fornita all'inizio da Li e Fraumeni, si trattava con ogni probabilità di una nuova entità clinica ereditaria caratterizzata da un'alta probabilità di sarcomi nei membri giovani e di carcinomi della mammella e di altre neoplasie in quelli adulti delle famiglie; l'affezione era attribuibile alla «trasmissione verticale di un agente oncogeno tra generazioni di individui geneticamente suscettibili» (Li e Fraumeni, 1969).

Anche a causa dell'estrema rarità della sindrome e della sua alta mortalità, elementi che precludono studi di genetica formale, non sorprende che in anni recenti lo studio delle basi biologiche della sindrome sia stato ripreso alla luce delle nuove acquisizioni in tema di geni regolatori della crescita neoplastica, anche se è ancora oggetto di ricerca la natura esatta di questi geni e il loro meccanismo d'azione. Per es., uno studio degli oncogèni *c-myc* e *c-raf-1* sui fibroblasti dei membri di una famiglia con la sindrome ha portato a identificare un notevole aumento dell'espressione del primo gene e un'attivazione del secondo (Chang *et al.*, 1987).

D'altra parte, più di recente, nella prospettiva che l'alterazione genetica potesse riguardare non gli oncogèni ma i *geni soppressori del tumore*, o *antioncogeni* (v.*), sono stati condotti due studi su famiglie colpite dalla sindrome ed entrambi hanno segnalato una mutazione puntiforme in uno di questi geni, quello *p53*. Uno studio recente sul gene ha dimostrato alterazioni a suo carico nelle 5 famiglie studiate, un rilievo importante considerato che il gene in questione è inattivo nelle forme non familiari della gran parte delle neoplasie osservate nella sindrome in questione (Malkin *et al.*, 1990). Non è ancora chiaro, tra l'altro, qualunque sia il meccanismo osservato, se si tratti in ogni caso di mutazioni casuali o di alterazioni genetiche indotte da cancerogeni chimici o fisici.

**Bibliografia**

Chang E. H., Pirollo K. F., Zou Z. Q. *et al.*, *Science*, 1987, **237**, 1036-1039.
Li F. P., Fraumeni J. F. jr., *Ann. Intern. Med.*, 1969, **71**, 747-751.
Malkin D. *et al.*, *Science*, 1990, **250**, 1233-1238.
Srivastava S., Zou Z. Q., Pirollo K. F. *et al.*, *Nature*, 1990, **348**, 747-749.

STEFANO CAGLIANO

## LINDAU, MALATTIA DI [v. vol. VIII, col. 1730]

La malattia di Lindau, o di Hippel-Lindau secondo alcuni AA., è un'affezione ereditabile a carattere autosomico dominante caratterizzata da tumori benigni e maligni ed eventuali formazioni cistiche in vari organi. Viene classificata nel gruppo delle *facomatosi* (v.). Le neoformazioni sono costituite da angiomi retinici, emangioblastoma cerebellare o spinale, carcinoma renale e feocromocitoma, cui possono associarsi cisti renali, epatiche o pancreatiche o dell'epididimo. Queste lesioni anatomopatologiche possono essere variamente associate tra loro e, comunque, la presenza di una sola di esse in un paziente deve indurre la ricerca delle altre; alcuni AA. sostengono addirittura che, in caso di emangioblastoma cerebellare isolato, occorrerebbe studiare anche gli altri membri della famiglia, nell'ipotesi che possa trattarsi di un caso di m. di L. con interessamento di un solo organo. È da sottolineare, comunque, che le neoplasie citate possono comparire singolarmente anche al di fuori della malattia in questione.

È noto da tempo che questa si trasmette come un carattere autosomico dominante. Le indagini di questi ultimi anni sembrerebbero indicare un legame tra la malattia e alcune alterazioni cromosomiche, più di frequente a carico del cromosoma 3 che presenterebbe in molti casi una delezione del braccio corto. In particolare, è stata fatta l'ipotesi che le alterazioni genetiche riguarderebbero i *geni soppressori del tumore*, o *antioncogeni* (v.*).

**Bibliografia**

Jordan D. K. *et al.*, *Cancer Genet. Cytogenet.*, 1989, **39**, 157-66.
Maher E. R. *et al.*, *J. Med. Gen.*, 1990, **27**, 311-4.
Tony K. *et al.*, *J. Natl. Cancer Inst.*, 1989, **81**, 1097-1101.

FRANCESCA LOBUSSO

## LINFADENITI INFETTIVE DISTRETTUALI SUPERFICIALI

*Sin.*: linfadenopatie infettive localizzate superficiali. - F. *lymphadénites infectieuses localisées extérieures.* - I. *regional (superficial) infectious lymphadenitis.* - T. *Lymphadenitis infektiöse lokalisiert oberflächlichen.* - S. *linfadenitis infeciosas localisadas exteriores.*

SOMMARIO





Digitized by Google

**tosiche** (col. 4622). - **Linfadeniti protozoarie** (col. 4623). - **Linfadeniti micotiche** (col. 4623). - **Linfadeniti di incerta etiologia** (col. 4623): *Sarcoidosi. - Malattia di Kawasaki. - Malattia da graffio di gatto.*

**Introduzione**

Le linfadeniti infettive sono suscettibili di classificazioni diverse: acute e croniche; superficiali e profonde; aspecifiche e specifiche; distrettuali e sistemiche; primitive o secondarie. La trattazione più idonea, in quanto globale, ci sembra quella in chiave etiologica, con correlazioni clinico-topografiche.

**Linfadeniti batteriche acute distrettuali**

*Linfadenite acuta aspecifica e adenoflemmone.* – I più comuni agenti etiologici sono i piogeni: si localizza, in ordine di frequenza, in sede cervicale (per flogosi bucco-dentarie o faringo-tonsillari; per dermiti del volto e del cuoio capelluto), ascellare e inguinale (da patologia flogistica degli arti); è caratterizzata da tumefazione linfonodale con i caratteri della flogosi acuta, fino all'adenoflemmone; non sempre è evidente il focolaio flogistico primario, anche perché può essere già risolto.

Il trattamento antibiotico, possibilmente guidato dall'antibiogramma, determina miglioramento e guarigione rapidi, ma la persistenza di una tumefazione linfonodale per una diecina di giorni è rilievo comune anche durante la terapia antibiotica. In caso di suppurazione è d'obbligo l'incisione chirurgica; se il pacchetto linfonodale persiste per lungo tempo è indicata l'escissione, anche ai fini diagnostici.

*Linfadenite acuta difterica.* – Tumefazione cervicale, voluminosa, con edema intenso, fino al collo proconsolare (da angina, rinite, congiuntivite determinate dal *Corynebacterium diphteriae*); raramente inguinale (vulvite difterica), oggi di rarissima osservazione.

*Linfadenite da angina di Vincent.* – Nella etiologia, multipla, predominano anaerobi, fusobatteri e spirilli; si manifesta come linfadenite cervicale associata a faringo-tonsillite e stomatite ulcero-necrotica. La terapia prevede l'uso di penicillina G o clindamicina in associazione con metronidazolo.

*Linfadenite tularemica.* – Nella tularemia (v.) la linfadenite, perlopiù evolvente in suppurazione e fistolizzazione, è localizzata in sedi diverse a seconda del territorio di inoculazione: sono descritte, infatti, forme epitrocleari, ascellari, inguinali. Il trattamento, in questi casi, è basato sull'uso di streptomicina, cloramfenicolo o tetracicline. Eventuale incisione degli adenoflemmoni.

*Listeriosi.* – In corso di listeriosi si possono verificare linfadeniti distrettuali satelliti alla localizzazione di ingresso del germe (*Listeria monocytogenes*) e linfadenopatie generalizzate (forma similmononucleosica). L'amoxicillina e il cloramfenicolo sono gli antibiotici utilizzati nel trattamento di queste forme (v. LISTERIOSI*).

**Linfadeniti batteriche subacute e croniche distrettuali**

La *linfadenite cronica aspecifica* è una iperplasia linfonodale non dolente causata da infezioni dei territori drenati dai vari linfonodi: per quelli del collo, flogosi croniche tonsillari e gengivo-dentarie (equivoca interpretazione di «linfatismo»!); per quelli dell'ascella e dell'inguine, flogosi ungueali, calli suppurati, corpi estranei ipodermici, dermiti e lesioni da parassiti («linfadenite dermopatica»). La pulizia chirurgica del focolaio flogistico causale (tonsillectomia, cura dei denti) e la somministrazione di antibiotici (sulfametopirazina) prolungata nel tempo in genere permette la risoluzione di queste forme.

Nella *malattia granulomatosa cronica dei bambini* le linfadenopatie sono raramente monodistrettuali, sempre suppuranti, e conseguenti a evidenti lesioni piogeniche cutanee e mucose. Spesso si accompagnano a granulomi pluriviscerali. Sono in causa batteri catalasi-positivi (stafilococco aureo, albo) e funghi, fagocitati ma non uccisi dai granulociti neutrofili a funzionalità difettosa per insufficienza enzimatica genetica (eredità recessiva legata al gonosoma X). Qualsiasi terapia è inefficace; gli antibiotici betalattamici possono prolungare l'intervallo tra gli episodi infettivi.

Per quanto riguarda la *linfadenite tubercolare cervicale* e la *linfadenite da vaccino tubercolare di Calmette-Guérin*, v. TUBERCOLOSI LINFONODALE, XV, 696 e, rispettivamente, 704.

La *linfadenite da micobatteri atipici* è in genere a sede laterocervicale, poco nota in Italia, e molto diffusa nelle regioni meridionali degli Stati Uniti, in Australia e in Europa settentrionale; è causata da micobatteri non tubercolari (*Mycobacterium kansasii*, *marinum*, *scrofulaceum*, etc.: v. MICOBATTERIOSI, X, 1124), abitualmente saprofiti, ubiquitari (acqua, suolo, alimenti), che determinano reazioni linfonodali sempre secondarie a lesioni cutanee o mucose, perlopiù di un solo linfonodo in sede sottomentoniera, facciale, mastoidea, pretragica. Rispetto alle linfadeniti da agenti tubercolari tipici, ha decorso più torpido, con suppurazione e fistolizzazione. Prediletta l'età infantile. La diagnosi viene posta con la reazione agli antigeni proteici da micobatteri atipici (PPD non tubercolare) o su prelievi bioptici, mediante reazioni immunoistochimiche con anticorpi monoclonali (Barbolini *et al.*, 1989).

Questa forma risulta essere alquanto resistente ai farmaci antitubercolari (rifampicina, etambutolo); pertanto spesso è necessaria l'ablazione chirurgica del pacchetto linfonodale. È incerta l'autonomia nosologica e la eventuale corresponsabilità dei micobatteri atipici con la linfadenite «da graffio di gatto» (v. sotto).

**Linfadeniti virali**

I virus determinano perlopiù linfadeniti iperplasiche «fredde» pluristazionali, che vanno quindi escluse dal presente capitolo, relativo a forme più strettamente distrettuali.

Primitivamente e prevalentemente distrettuali, peraltro, possono manifestarsi la *mononucleosi infettiva* (latero-cervicale), la *rosolia* (retroauricolare ed occipito-nucale), la *malattia citomegalica* e, soprattutto, le *linfadeniti da adenovirus*: iperplasiche, latero-cervicali e sottomandibolari, che possono essere presenti in alcune sindromi cliniche adenovirali quali la malattia respiratoria acuta, la tonsillo-faringite abatterica, la febbre faringo-congiuntivale. La terapia è solo sintomatica.

**Linfadeniti spirochetosiche**

*Sifilide.* – Nella forma connatale possono essere presenti adenopatie mono-pluristazionali e ubiquitarie (cervicali, ascellari, inguinali), satelliti ai territori colpiti dalle diverse lesioni luetiche (riniti, placche mucose, pemfigoide luetico, condilomi); nella lue acquisita dell'infanzia in genere si riscontra adenopatia satellite al sifiloma primario (perlopiù extra-genitale: bocca).

La terapia elettiva è la penicillina G tenendo presente la possibilità della reazione di Herxheimer.

*Febbre da morso di topo (Sodoku).* – Sia nella forma determinata dallo *Spirillum minus* che in quella dovuta allo *Streptobacillus moniliformis*, si ha interessamento linfadenitico disseminato (coltura del germe dai linfonodi): nella prima forma, in particolare, la linfadenite è in genere satellite alla lesione cutanea.

Digitized by Google

La penicillina G è l'agente terapeutico elettivo. Indispensabile la profilassi antitetanica.

**Linfadeniti protozoarie**

Le linfadenopatie associate con l'infezione da *Toxoplasma gondii* possono essere inizialmente distrettuali (nuca, collo, ascelle), indolenti, «fredde», non simultanee e costituiscono nella *toxoplasmosi acquisita* il sintomo più frequente rappresentando, nella metà dei casi, tutta la sintomatologia clinica (febbre ed esantemi sono incostanti).

Il trattamento richiede combinazioni di agenti terapeutici: in sinergismo agiscono la pirimetamina e la sulfametossidiazina o la spiramicina (v. TOXOPLASMOSI).

Nella *leishmaniosi* le linfadenopatie da reticolo-endotelite protozoaria (*Leishmania*) si hanno sia nella forma viscerale (sostenuta da *L. donovani*), sia nella forma cutanea (sostenuta da *L. tropica*) e sono rispettivamente sistemiche nella prima e monostazionali nella seconda.

La terapia si avvale dei composti organici di antimonio (antimoniato di N-metilglucamina).

**Linfadeniti micotiche**

Le linfadeniti micotiche distrettuali superficiali colpiscono in genere soggetti immunodepressi per qualsiasi causa. Le profonde fanno parte della patologia di alcune micosi generalizzate (criptococcosi, coccidioidomicosi, istoplasmosi, blastomicosi), rare nel nostro paese (forse anche perché raramente ricercate), più frequenti nel continente americano.

Per la terapia di queste forme è risultato utile l'uso della amfotericina e del ketoconazolo (v. ANTIMICOTICI*; KETOCONAZOLO*).

**Linfadeniti di incerta etiologia**

*Sarcoidosi*

Le linfadenopatie superficiali (sopraclaveari, cervicali, ascellari, epitrocleari), palpabili e recidivanti, e quelle profonde degli ili polmonari, bilaterali, rappresentano, con le lesioni cutanee ed oculari, le manifestazioni principali della malattia che colpisce di più i giovani adulti. La diagnosi di certezza deriva dall'esame istologico: granuloma tipico.

Essendo ignota la causa della sarcoidosi, non esiste terapia specifica: utile quella corticosteroidea (v. SARCOIDOSI).

*Malattia di Kawasaki*

Ad etiologia ancora ignota, presenta nel corredo sintomatologico una linfadenopatia cervicale (almeno un linfonodo di diametro superiore ad 1,5 cm), febbre elevata, mucositi, esantemi cutanei (v. KAWASAKI, MALATTIA DI*).

*Malattia da graffio di gatto*

1. *Introduzione.* – La «malattia da graffio di gatto» [M. G. G.], tipica ed esemplare linfadenite distrettuale, è patologia «nuova», comparsa in epoca relativamente recente. Non si spiega altrimenti come possa essere sfuggita all'acuta indagine dei clinici e dei patologi del secolo scorso.

La conoscenza «ufficiale» della malattia risale al 1950, con la descrizione di una diecina di casi da parte di R. Debré *et al.* Ma è meno noto che la prima osservazione, da parte di Debré, avvenne in realtà molti anni prima, nel 1931, in un ragazzo affetto da una «strana» adenite brachiale epitrocleare similtubercolare (suppurata, ma abatterica), pur essendo egli cutinegativo, e tatuato, sulla cute del braccio stesso, da graffi di gatto. Il rapporto con un ignoto agente etiologico inoculato dalle unghie del gatto fu stabilito nel 1947, allorché Debré, incontrandosi con L. Foshay – che, batteriologo a Cincinnati, in U.S.A., studiava da tempo la tularemia – venne a sapere che anche in America del Nord erano comparsi da qualche anno casi di «febbre da gatto» con adenite. Debré ottenne da Foshay l'antigene per l'intradermoreazione specifica, ed anche in Francia, con esso e con un antigene (dal pus linfonodale diluito) preparato da Costil, fu possibile produrre la reazione biologica in individui con adenopatia da graffio di gatto.

Questa la storia della malattia, in effetti «nuova», cui Debré *et al.* dettero nome *malattia da graffio di gatto* (*maladie des griffes du chat*) e che Mollaret – che contemporaneamente, a Parigi, studiava e descriveva l'affezione, anch'egli preparando l'antigene – chiamò *linforeticulosi benigna da inoculazione*. Gli AA. di lingua inglese parlano di *febbre da gatto*, di *malattia da graffio di gatto* (*cat-scratch disease*) o di *linfadenite regionale non batterica* .

Sulla M. G. G. esistono, eccezion fatta per la clinica, molti vuoti conoscitivi: esistono dubbi sull'agente etiologico ed il suo serbatoio; gli aspetti istopatologici della linfadenite sono ambigui, sì da rendere ardua la diagnosi differenziale anche all'occhio di esperti patologi.

È ritenuta malattia rara o, per converso, la più frequente adenopatia distrettuale dell'infanzia. Le osservazioni descritte sono in aumento negli ultimi anni. L'affezione sfugge per difetto conoscitivo, per scarsa sensibilizzazione o per errata diagnosi ed è certo più frequente di quanto appaia, pur con notevoli differenze di distribuzione epidemiologica. È diffusa nell'Occidente dell'Europa e nel Nord America. Nel 1986, negli U.S.A., vi sono stati circa 6000 casi, di cui 2100 sono stati ospedalizzati. La casistica personale di Cheli e Barbolini ammonta a circa 150 osservazioni di M. G. G., perlopiù relative a bambini ed è stata raccolta nella provincia di Modena con la collaborazione di U. Barbolini e D. Cuoghi.

2. *Quadro clinico.* – Il quadro clinico più consueto è connotato da febbre lieve (38 °C) e transitoria (55% dei casi), accompagnata o seguita dalla comparsa di una linfadenite monolaterale, ascellare (46%), cervicale (34%) o, in subordine, inguinale, acuta o subacuta, con perilinfadenite, cute arrossata, scarsa dolenzia spontanea ma dolore spiccato alla palpazione e con tendenza alla colliquazione (45%) nell'arco di 2-3 settimane (fig. 1). La regressione spontanea è eccezionale. Non mancano però casi di linfadenite «fredda», che rendono necessaria la diagnosi differenziale con i «linfomi», né eventi di fistolizzazione spontanea (25%).

La linfadenopatia distrettuale è preceduta, da 1 a 3 settimane, da un graffio di un gatto o da una qualsiasi lesione cutanea la quale, quando la linfadenite compare, può essere ancora visibile nel territorio tributario ad essa, come papula primaria infetta, come piccola cicatrice o essere del tutto scomparsa.

Le alterazioni di alcuni parametri di laboratorio dimostrate in corso di malattia sono del tutto aspecifiche: discreta leucocitosi granulocitica e modesto aumento della velocità di eritrosedimentazione. L'indagine anamnestica precisa che si tratta in genere di pazienti che abitano in pianura e che hanno abituali contatti col terriccio.

L'evidenza di lesioni cutanee riconducibili al graffio di un gatto (32%) o ad altri agenti (puntura di spina, 3%; abrasione cutanea per caduta a terra, 5%) si raccoglie direttamente al momento del ricovero, o, retrospettivamente, nel 50% dei casi circa. Comunque, ove accertata, la sede della lesione cutanea primitiva è generalmente agli arti superiori, al volto o alla regione cervicale, molto più di rado agli arti inferiori.

Tipico della M. G. G. è l'interessamento concomitante (6%) dei linfonodi ascellari ed epitrocleari, tappa intermedia, quest'ultima, del drenaggio linfatico della mano e dell'avambraccio. La tumefazione linfonodale, del volume di un uovo, è perlopiù monolaterale, unica.

Nella casistica personale di Cheli il raro quadro clinico di





Digitized by Google

Fig. 1. Linfadenite da graffio di gatto. *A*) Sindrome di Parinaud: lesione primaria palpebrale, congiuntivite, linfadenite preauricolare. *B*) Linfadenite ascellare «fredda». *C*) Linfadenite acuta ascellare e medio-brachiale. *D*) Linfadenite inguinale «fredda» e postumi della lesione di inoculo pararotulea omolaterale. (*Osservazioni Cheli*).

*sindrome oculoghiandolare di Parinaud* (linfadenite pretragica e/o angolo mandibolare, associata a congiuntivite) si è presentato in due bambini graffiati sulla faccia (fig. 1, *A*).

Nel 15% dei pazienti sono stati osservati esantemi polimorfi (eritemato-papulosi, morbilliformi ed anche eritema nodoso), a contemporanea comparsa con l'adenopatia, esauribili in un paio di settimane.

Sono state descritte forme atipiche di sindromi meningoencefaliche generalmente benigne, infiltrati polmonari e porpore trombocitopeniche.

La diagnosi differenziale clinica della M. G. G. va posta principalmente con la tubercolosi (adeniti cervicali con tendenza alla fistolizzazione, associate a Mantoux debolmente positiva), la mononucleosi infettiva, la toxoplasmosi, i linfomi maligni, il linfogranuloma venereo e la lue.

Sul piano immunologico, l'intradermoreazione con antigene specifico della M. G. G. è scarsamente utile: la cutireazione è assai tardiva, i falsi negativi sono stimabili nella misura del 10-20%, quelli positivi possono presentare variabilità ancora maggiore: dall'8 al 30%.

3. *Istopatologia.* – Il quadro macroscopico del pacchetto linfonodale asportato richiama l'aspetto della omogeneizzazione necrotica lardacea della tbc linfonodale (fig. 2). Il quadro istopatologico tradizionale della M. G. G. è quello di una linfadenite caratterizzata da iperplasia reticolare diffusa o confluente, più o meno marcata, con possibile sovvertimento dei centri chiari follicolari (fig. 3, *A*). Tale quadro, in realtà soltanto iniziale e transitorio, non è distinguibile da quello di una comune linfadenite reticolare iperplasica reattiva. In fasi più avanzate si manifestano fenomeni di ascessualizzazione e di necrosi (fig. 3, *B*), con formazione di cavità ascessuali stellariformi, talora circondate da un bordo a palizzata di cellule epitelioidi con tipico reperto di detriti cellulari e, soprattutto, di granulociti neutrofili (fig. 3, *C*). Variamente giustapposte

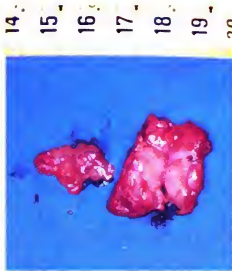



Fig. 2. Linfadenite da graffio di gatto. Pacchetto linfonodale asportato: l'aspetto di sezione evoca la omogeneizzazione necrotica lardacea della tubercolosi linfonodale. (*Osservazione Cheli*).





Digitized by Google

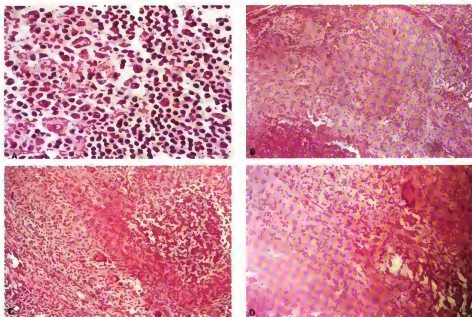



Fig. 3. Linfadenite da graffio di gatto. *A*) Quadro di iperplasia reticolare e plasmocitica con grosse cellule epitelioidi (linforeticulosi secondo Mollaret): stadio iniziale. *B*) Istotipo di iperplasia nodulare confluente con diversi stadi di necrosi fino alla ascessualizzazione. *C*) Necrosi ascessualizzata, infiltrazione epitelioide e leucocitaria, cellule giganti. *D*) Necrosi similcaseosa, aree di ascessualizzazione, infiltrazione leucocitaria e voluminosa cellula gigante tipo Langhans. (*Osservazioni Cheli e Barbolini*).

ai bordi della necrosi si riscontrano cellule giganti di varia morfologia, tipo Langhans o più spesso tipo corpo estraneo (fig. 3, *D*).

L'istotipo può essere facilmente confuso con quello tubercolare, anche perché, in pratica, la biopsia è tardiva e di conseguenza il quadro istopatologico può dar luogo, con l'evoluzione, a notevoli difficoltà diagnostiche differenziali. A seconda dello stadio evolutivo le varianti istopatologiche si configurano principalmente in quadri pseudotoxoplasmici, pseudotubercolari, pseudolinfomatosi. Un valido parametro differenziale è l'indagine istochimica con la ricerca dei polisaccaridi acidi jaluronidasi-sensibili, basofili a pH 4, dimostrabili nella necrosi della M. G. G., ma non in quella tubercolare (G. Barbolini *et al.*, 1989).

Nella casistica riportata, la ricerca di forme fungine è risultata costantemente negativa, mentre quella delle forme

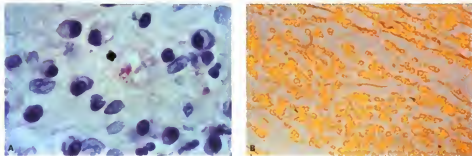



Fig. 4. Linfadenite da graffio di gatto. *A*) Immagini bastoncellari in cellula necrotica (metodo Ziehl-Nielsen). *B*) Rare immagini bastoncellari nere (metodo Nyka). (*Osservazioni Barbolini e Cheli*).



Digitized by Google

micobatteriche è stata positiva nel 58% circa di osservazioni, con il metodo di Ziehl-Nielsen (fig. 4, *A*) e di Nyka (fig. 4, *B*). È soprattutto nei casi atipici, nei quali possono risultare fuorvianti sia il quadro clinico che quello istopatologico, ad assumere valore dirimente una attenta valutazione epidemiologica ed una paziente indagine anamnestica.

4. *Epidemiologia ed etiologia.* – L'epidemiologia e l'etiologia della M. G. G. sono state per anni un mistero, né sono finora del tutto provate. Si è ritenuto che il serbatoio dell'agente etiologico fossero i passeri e che il gatto, loro noto cacciatore, si infettasse e ne fosse il trasmettitore.

Ricerche personali hanno però fatto meditare su alcune considerazioni: gatti e passeri sono sempre esistiti, mentre la malattia è nuova e del tutto eccezionale là dove (ad es. a Roma, per esperienza personale) gatti e passeri abbondano dai tempi dei tempi; la malattia invece è più frequente nel nord Italia e rara al centro e nel sud; non ne esistono casi in collina o in montagna, trattandosi soltanto di malattia di pianura. Ne è derivata l'ipotesi, suffragata da studi ornitologici, che il serbatoio dell'agente infettante possa essere la tortora dal collare orientale (*Streptopelia decaocto*), uccello asiatico di pianura giunto in Europa verso gli anni '30 (fig. 5, *B*) ed in Italia verso gli anni '50, a Caorle (Venezia) ed a Carpi (Modena) ove la malattia è frequente come in tutta la pianura modenese (fig. 5, *A*).

Le nostre indagini relative alla *Streptopelia decaocto* (fig. 5, *B*) hanno dimostrato: la stretta correlazione intercorrente tra la loro distribuzione territoriale (Emilia-Romagna) e la distribuzione topografica della casistica (fig. 5, *A*); la possibile correlazione inversa tra estrema rarità, o assenza, della M. G. G. in zone di mancata stanzialità (Italia centro-meridionale ed insulare) della *Streptopelia decaocto*; la concomitanza rilevabile tra epoca di segnalazione della M. G. G. nell'Europa centrale ed occidentale e nell'Italia settentrionale, ed espansione areale della *Streptopelia decaocto*.

È pertanto possibile che al genere *Streptopelia* sia riconducibile il ruolo di serbatoio naturale dell'agente patogeno della M. G. G., ed è inoltre da rilevare anche che i colombiformi possono risultare vettori sia di virus che di micobatteri atipici.

Le ricerche di English *et al.* (1988), di English (1990) e di Brenner *et al.* (1991) sembrano aver risolto il problema dell'etiologia della M. G. G. con l'isolamento (da linfonodi di pazienti affetti da M. G. G.) e la coltura di un bacillo gramnegativo, mobile, ossidasipositivo, ureasipositivo che cresce a 25-30 °C su un terreno a base di brodo nutritivo e BCYE (*buffered charcoal-yeast extract*): a tale microrganismo, appartenente alla classe dei *Proteobacteria*, è stato dato il nome di *Afipia felis*. Tali studi peraltro non giustificano il quadro istopatologico tipicamente simiItubercolare che deporrebbe per una etiologia da micobatteri atipici.

5. *Terapia.* – La linfadenite da M. G. G. è completamente insensibile alla terapia medica antibiotica. L'unica terapia efficace è quella chirurgica, che consiste nell'ablazione del pacchetto linfonodale flogosato: oltre a consentire la conferma bioptica, rappresenta un atto terapeutico definitivo che previene le complicanze ed accorcia la durata della malattia. L'atto chirurgico deve essere completo, con radicale asportazione dei linfonodi (tempestivamente, prima della loro completa colliquazione), al fine di prevenire le complicanze locali e le cicatrici deturpanti.

6. *Conclusioni.* – Come risulta dalla letteratura internazionale e dalla personale esperienza di chi scrive, la M. G. G. può essere considerata in sintesi come una forma di linfadenite infettiva distrettuale superficiale, la quale:

a) appare diffusa soprattutto in zone pianeggianti (ivi compresa la Pianura Padana), dove, benché spesso misconosciuta, costituisce un'evenienza piuttosto frequente;

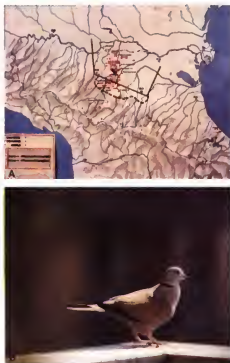



Fig. 5. Linfadenite da graffio di gatto. *A*) Distribuzione delle casistica personale nella pianura modenese. *B*) Tortora dal collare orientale (*Streptopelia decaocto*). (*Osservazione Barbolini e Cheli*).

b) sembra causata da una nuova specie batterica (*Afipia felis*), appartenente alla classe dei *Proteobacteria*, il cui serbatoio è verosimilmente, in Italia, costituito dalle tortore della specie *Streptopelia decaocto* e che viene trasmessa spesso, ma non esclusivamente, dal graffio del gatto (una più appropriata denominazione sarebbe forse quella di *linfadenopatia benigna da inoculazione*);

c) ha un quadro clinico variabile e aspecifico che non consente sempre di formulare una diagnosi di certezza (per la quale è invece dirimente il riscontro istopatologico di tipiche lesioni granulomatose simiItubercolari);

d) è praticamente insensibile ai trattamenti antibiotici e può invece richiedere l'escissione chirurgica dei linfonodi interessati.

**Bibliografia**

Barbolini G., Bisetti G. *et al.*, *Human Pathol.*, 1989, **20**, 1078.
Boyd G. L., Craig G., *J. Pediatr.*, 1961, **59**, 313.
Brenner D. J. *et al.*, *J. Clin. Microbiol.*, 1991, **29**, 2450.
Carithers H. A., *Am. J. Dis. Child.*, 1970, **119**, 200.
Cheli E. *et al.*, *Giorn. Mal. Inf. Parass.*, 1958, **10**, 511.
Cheli E. *et al.*, *Giorn. Mal. Inf. Parass.*, 1962, **14**, 179.
Cheli E., Pavesi G., *Riv. Chir. Pediatr.*, 1973, **15**, 157.
Cheli E., Barbolini G., Saviano M. S., Barbolini U., *Giorn. Mal. Inf. Parass.*, 1978, **30**, 726; 729; 779; 784.
Cheli E., Barbolini U., *Riv. It. Ped.*, 1979, **5**, 529.





Digitized by Google

Cheli E., Barbolini G., Cuoghi D., *Boll. Soc. Med. Chir. Modena*, 1983, **83**, 1.
Cheli E., Barbolini U., Cuoghi D., *Lotta contro la tubercolosi*, 1984, **54**, 444.
Debré R. *et al.*, *Sem. Hôp. Paris*, 1950, **26**, 1895.
English C. K. *et al.*, *J.A.M.A.*, 1988, **259**, 1347.
English C. K., *Ph. D. thesis*, Georgetown University, Washington.

ENRICO CHELI E GIUSEPPE BARBOLINI

## LINFADENOPATIA ANGIOIMMUNOBLASTICA [v. vol. VIII, col. 1740]

*Introduzione*

La linfadenopatia angioimmunoblastica [LAI] è un'entità clinicopatologica, propria dell'età avanzata, ad esordio acuto, caratterizzata da linfadenomegalia sistemica, epatosplenomegalia, febbre e ipergammaglobulinemia policlonale associata a varie manifestazioni autoimmuni. Il quadro istologico è caratterizzato da obliterazione diffusa dell'architettura linfonodale, proliferazione di venule ad endotelio alto nonché da infiltrazione linfocitaria polimorfa comprendente numerosi immunoblasti e plasmacellule (v. LINFADENOPATIA ANGIOIMMUNOBLASTICA, figg. 1-3). Questo quadro patologico è stato considerato espressione di una reazione immune abnorme con grave compromissione dell'immunità cellulo-mediata e associata a immunodeficienza con suscettibilità a infezioni opportunistiche fatali, nonché a insorgenza di linfomi, eventualità questa descritta nel 15-30% dei casi.

Shimoyama *et al.* (1979) hanno per primi suggerito la eventualità che la LAI fosse in realtà un linfoma T periferico a prevalente fenotipo soppressore-citotossico, proponendo il termine di linfoma a cellule T-LAI simile. Da allora numerosi studi immunologici, citogenetici e di biologia molecolare hanno migliorato la comprensione della natura e della patogenesi della LAI.

*Aspetti immunologici*

Nella LAI l'infiltrato cellulare linfonodale è rappresentato prevalentemente da cellule T con un fenotipo maturo, in alcuni casi CD4-positive (linfociti T *helper/inducer*), in altri CD8-positive (linfociti T *suppressor/cytotoxic*). I linfociti T mostrano un fenotipo attivato e rappresentano la quota proliferante. Scarsi sono i linfociti B, policlonali, 4-8% dei quali proliferano; le plasmacellule presenti mostrano secrezione policlonale di immunoglobuline (Ig). In alcuni casi di LAI le cellule T non esprimono l'antigene CD7, la cui assenza nei linfociti T post-timici è considerata indice di malignità. Studi *in vitro* hanno dimostrato che i linfociti T CD4-positivi dei pazienti con LAI sono in grado di produrre linfochine solubili che inducono i linfociti B a proliferare e a differenziarsi in cellule produttrici di Ig. Tuttavia nel corso della malattia la funzione *helper* può risultare alterata, emergendo la funzione soppressoria con immunodeficienza.

*Oncogèni*

Nella LAI sono state segnalate modificazioni quantitative dell'mRNA di alcuni oncogèni; in particolare un aumento del *c-myb* e del *N-ras* e una scarsa espressione del *c-fos*, alterazioni nell'insieme analoghe a quelle dei disordini immunitari come il lupus eritematoso. Questi oncogèni, i cui livelli di espressione tornano normali dopo terapia con ciclofosfamide, possono essere implicati nella fase iniziale della genesi della LAI, ma non sembrano essere gli agenti causali.

*Virus*

È stato ipotizzato che un'infezione virale possa essere l'evento causale della LAI, ma il ruolo etiologico dei virus non è chiaro; possibili agenti sarebbero il virus di Epstein-Barr, il virus della rosolia e il virus dell'immunodeficienza acquisita (HIV).

*Riarrangiamento genico*

La dimostrazione di eventi di riarrangiamento dei geni delle catene delle Ig e di quelle del recettore delle cellule T (RCT) è stata usata per evidenziare la monoclonalità di linfomi e leucemie. Lo studio del riarrangiamento della catena beta del RCT nella LAI ha dato risultati eterogenei: in circa il 75% dei casi è stato descritto riarrangiamento clonale del RCT beta e/o gamma e delta. Sono stati riportati casi con riarrangiamento clonale dei geni delle catene delle Ig, isolato o in associazione con il riarrangiamento per il RCT. Questi dati, indicativi di proliferazione clonale di cellule T, farebbero interpretare la LAI come un linfoma T. In circa il 25% dei casi di LAI non è documentabile riarrangiamento clonale nè per le Ig nè per il RTC. Sono stati inoltre segnalati casi di LAI in cui sono presenti bande clonali deboli per il RTC; queste rappresenterebbero lesioni clonali, non maligne, in cui sono presenti cloni linfoidi che possono espandersi o regredire nel corso della malattia oppure progredire verso una lesione maligna.

*Citogenetica*

Dati sull'analisi dei cromosomi confermano l'esistenza di forme clonali e non clonali di LAI in quanto sono stati descritti casi con anomalie cromosomiche e casi con cariotipo normale.

*Conclusioni*

La LAI è una lesione polimorfa in cui è stato possibile identificare diverse entità; Frizzera (1989) propone di riservare il termine LAI a quei casi in cui le analisi genotipiche rivelano una popolazione policlonale; questi casi rappresentano reazioni immunitarie abnormi del sistema T, la cui attività stimolatoria seguita da una fase soppressoria condiziona il decorso clinico, spesso fatale della malattia. I casi in cui è dimostrabile una proliferazione clonale delle cellule T vanno invece inquadrati nell'ambito dei linfomi T. Per i casi in cui sono presenti cloni linfoidi instabili, ancora suscettibili di immunoregolazione, Frizzera propone il termine di displasia LAI-simile.

**Bibliografia**

Feller A. C., Griesser H. *et al.*, *Am. J. Pathol.*, 1988, **133**, 549.
Frizzera G., Kaneko Y., Sakurai M., *Leukemia*, 1989, **3**, 1.
Ganesan T. S., Dhaliwal H. S. *et al.*, *Br. J. Cancer*, 1987, **55**, 437.
Kaneko Y., Maseki N. *et al.*, *Blood*, 1988, **72**, 413.
Knecht H., *Sem. Hematol.*, 1989, **26**, 208.
Lipford E. H., Smith H. R. *et al.*, *J. Clin. Invest.*, 1987, **79**, 637.
O'Connor N. T. J., Crick J. A. *et al.*, *J. Clin. Pathol.*, 1986, **39**, 1229.
Shimoyama M. *et al.*, *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 1979, **9** (Suppl.), 347.
Steinberg A. D. *et al.*, *Ann. Intern. Med.*, 1988, **108**, 575.
Tkachuk D. C., Griesser H. *et al.*, *Blood*, 1988, **72**, 353.
Tobinai K., Minato K. *et al.*, *Blood*, 1988, **72**, 1000.

GIANMARIO MARIUZZI E CARLA DI LORETO

## LINFANGITE E LINFADENITE [v. vol. VIII, col. 1759]

### LINFADENITI

SOMMARIO





Digitized by Google

**Introduzione**

I linfonodi, che costituiscono i principali componenti del tessuto linfatico periferico, sono disseminati in tutto l'organismo lungo i vasi linfatici. Di norma quelli delle stazioni superficiali sono difficilmente apprezzabili con la palpazione e hanno un diametro variabile intorno a pochi millimetri; quelli profondi possono invece raggiungere anche i due centimetri. Dal punto di vista funzionale i linfonodi rappresentano le stazioni periferiche del sistema immunocompetente, e sono preposti al riconoscimento di tutti gli agenti patogeni, comprese le cellule neoplastiche, che vi giungono tramite la circolazione linfatica dai territori tributari.

I linfonodi sono quindi sede di frequenti reazioni infiammatorie acute e croniche che possono risolversi con *restitutio ad integrum* o giungere fino alla distruzione per necrosi del tessuto linfoghiandolare stesso, con successiva fibrosi sostitutiva.

Il termine *linfadenite* indica un processo reattivo acuto o cronico che interessa il linfonodo, ed è secondario a *noxae* infettive come batteri, protozoi, miceti e virus, o a cause tossiche endogene paraneoplastiche, o esogene chimiche; infine può anche costituire l'espressione morfologica di malattie da ipersensibilità o autoimmuni.

Il denominatore comune di tutte le linfadeniti è rappresentato dall'aumento di volume del linfonodo, causato inizialmente dall'edema che costituisce parte della reazione infiammatoria acuta, e, successivamente, dalla proliferazione reattiva delle diverse popolazioni cellulari del tessuto linfatico; quest'ultima evenienza è particolarmente evidente nelle linfadeniti croniche.

Per le loro caratteristiche di filtro a tutti gli agenti patogeni, i linfonodi superficiali che più frequentemente vanno incontro a fenomeni reattivi iperplastici sono quelli delle stazioni laterocervicali, sopraclaveari, ascellari e inguinali.

Significative differenze fra linfadeniti acute e croniche sono apprezzabili già all'esame obiettivo: nelle prime la cute sovrastante i linfonodi superficiali è eritematosa in seguito a iperemia attiva locale con aumento della temperatura e dolore alla palpazione; la consistenza dei linfonodi è duro-elastica nelle infezioni virali e nella fase iniziale di quelle batteriche, mentre è molle e ridotta, con possibile fluttuazione, se si sono instaurati fenomeni di ascessualizzazione e necrosi colliquativa. La linfadenite cronica, al contrario, non è accompagnata solitamente da apprezzabile coinvolgimento dei tessuti superficiali, e così la sintomatologia si limita all'aumento di volume e di consistenza del linfonodo.

A queste differenze cliniche, che per altro corrispondono a diverse modalità di instaurarsi della risposta infiammatoria che coinvolge il linfonodo, corrispondono significative differenze funzionali. Come già detto, i linfonodi costituiscono un vero e proprio filtro nei confronti degli agenti patogeni; di conseguenza rappresentano una precoce difesa aspecifica che si instaura rapidamente, e si realizza nel fenomeno dell'infiammazione acuta, con possibile grave danno del tessuto linfoghiandolare stesso. I linfonodi costituiscono anche il microambiente nel quale il sistema immunocompetente, la cui risposta specifica è in grado di riconoscere anche differenze antigeniche dell'ordine di singoli aminoacidi, esprime una proliferazione di specifici cloni linfocitari che danno luogo all'espressione morfologica della linfadenite cronica. Questa risposta selettiva e specifica è sostenuta dalle diverse popolazioni cellulari del tessuto linfatico periferico: vale a dire, dai linfociti T e dai linfociti B e dalle cellule accessorie follicolari dendritiche, interfollicolari e monocito-macrofagiche. La struttura istologica del

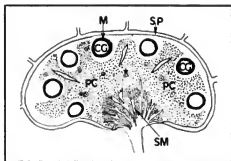



Fig. 1. Schema dell'organizzazione strutturale del linfonodo: M = mantellare; CG = centro germinativo; PC = area paracorticale; SP = seno periferico; SM = seno midollare; * venule ad alto endotelio.

linfonodo è infatti caratterizzata da una specifica compartimentalizzazione delle diverse componenti cellulari, vale a dire delle cellule capaci di presentare l'antigene (macrofagi dei seni, cellule dendritiche dei follicoli, cellule interdigitate delle aree paracorticali interfollicolari), e dei linfociti B e T costituenti rispettivamente i follicoli linfatici e la paracorticale del linfonodo (fig. 1). Questa organizzazione strutturale è alla base della cooperazione fra le diverse popolazioni cellulari del sistema immunocompetente.

Le *linfadeniti infettive distrettuali superficiali* (v.*) hanno una trattazione a parte.

**Linfadeniti acute**

Le linfadeniti acute sono indotte da numerosi germi e dalle loro tossine che vengono drenate al linfonodo dai tessuti che costituiscono la porta d'ingresso degli agenti infettivi. Le tossine e i batteri non piogeni inducono rapidamente la stimolazione aspecifica dei macrofagi presenti nei seni linfatici periferici e profondi del linfonodo. L'attivazione di queste cellule comporta la secrezione dei mediatori solubili dell'infiammazione che sono a loro volta i responsabili dell'aumentata permeabilità vascolare e quindi dell'edema e del richiamo di leucociti polimorfonucleati.

Questi ultimi sono i principali protagonisti della linfadenite acuta quando i germi che l'hanno determinata sono batteri piogeni — stafilococchi e streptococchi. Nel contesto del tessuto, in presenza di questi germi, si formano microascessi che possono portare alla completa distruzione del linfonodo per necrosi colliquativa. Se invece l'infezione del linfonodo è dovuta a batteri non piogeni, la linfadenite sarà caratterizzata dall'iperplasia dei macrofagi dei seni con desquamazione degli stessi nel loro lume («catarro dei seni»). In casi particolarmente gravi la linfadenite acuta è caratterizzata da estesa necrosi emorragica: esempio classico di questa possibilità è l'infezione da *Yersinia pestis*.

**Linfadeniti croniche**

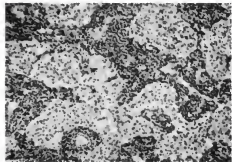
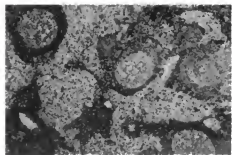
Le linfadeniti croniche costituiscono un processo reattivo e spesso iperplastico, sostenuto da quelle popolazioni cellulari del linfonodo che sono state stimolate da antigeni di diversa natura: infettiva, batterica o virale, chimica, esogena o endogena paraneoplastica, dagli antigeni delle cellule neoplastiche e da antigeni propri, come nel caso di malattie autoimmunitarie.




Digitized by Google

Qualunque tipo di stimolazione antigenica, agendo sul sistema immunocompetente, attiva in successione le cellule accessorie e quindi i linfociti B e T. Tuttavia in funzione del tipo di stimolo antigenico, la reazione tessutale è caratterizzata da una risposta che può essere o prevalentemente B o T o delle cellule accessorie monocito-macrofagiche. Possiamo distinguere quindi tre tipi principali di linfadenite cronica: la linfadenite sinusale con particolare attivazione e proliferazione dei macrofagi dei seni linfatici del linfonodo; la linfadenite follicolare iperplastica con predominante attivazione delle aree B e, infine, la linfadenite diffusa con attivazione soprattutto delle aree paracorticali T-dipendenti.

*Linfadenite sinusale*

Costituisce spesso il tipo di linfadenite cronica che si instaura nei linfonodi drenanti linfa dagli arti (linfonodi ascellari e inguinali) ove sia presente una lesione infiammatoria, o nei linfonodi tributari di organi o tessuti con lesioni neoplastiche. Può essere anche secondaria all'introduzione di determinate sostanze, come il lipide radiopaco che viene iniettato nei linfatici del dorso del piede per eseguire una linfangiografia, o ad agenti infettivi batterici come nella malattia di Whipple. Spesso tuttavia la sua etiologia è totalmente ignota.

Dal punto di vista istologico è caratterizzata dalla distensione dei seni linfatici corticali e midollari del linfonodo (fig. 2), che appaiono stipati da numerosi macrofagi con ampio citoplasma debolmente eosinofilo. Nei linfonodi che drenano aree cutanee, i macrofagi dei seni contengono spesso pigmento melanico. Le aree T e B del linfonodo sono talvolta ipoplastiche fino alla completa scomparsa dei follicoli B.

Una particolare linfadenite sinusale descritta da Rosai e Dorfmann è la «istiocitosi dei seni con massiva linfadenopatia» (fig. 3). Entità a patogenesi oscura, è di natura benigna, pur potendo avere un decorso di anni, con lenta e spontanea risoluzione. È più frequente fra i soggetti di colore e durante la prima e seconda decade di vita; colpisce preferibilmente le stazioni linfoghiandolari laterocervicali: i linfonodi interessati hanno i seni linfatici totalmente distesi da macrofagi con ampio citoplasma contenente linfociti, plasmacellule o eritrociti fagocitati. Si accompagna a fibrosi capsulare e perilinfonodale.

Un'altra linfadenite cronica con prevalente interessamento dei seni del linfonodo costituisce la cosiddetta «trasformazione vascolare dei seni». Può essere causata da iperemia del linfonodo che è a sua volta secondaria a trombosi venose distrettuali; è caratterizzata da fibrosi intrasinusale accompagnata da neogenesi vascolare (fig. 4). La trasformazione vascolare dei seni rappresenta uno degli aspetti caratteristici della linfadenite da HIV o linfadenopatia persistente generalizzata.

Va tenuto presente che l'iperplasia reattiva a carico delle cellule del sistema monocito-macrofagico con il quadro istologico della linfadenite sinusale può associarsi a altre linfadeniti croniche come la linfadenite follicolare iperplastica e la linfadenite diffusa.

*Linfadenite follicolare iperplastica*

Rappresenta l'espressione morfologica della stimolazione e attivazione dei linfociti B che nel linfonodo si aggregano a costituire i follicoli linfatici. È senza dubbio la più comune reazione proliferativa del sistema immunocompetente che, in svariate condizioni croniche, può associarsi di volta in volta anche a iperplasia sinusale e ad attivazione della paracorticale T-dipendente.

I follicoli iperplastici spesso occupano l'intero linfonodo, estendendosi dalla corticale fino alla midollare. Sono costi-

Fig. 2. Linfadenite sinusale: marcata distensione dei seni linfatici midollari.

Fig. 3. Istiocitosi dei seni con massiva linfadenopatia: i seni linfatici sono «zaffati» da istiociti e macrofagi, unitamente a rari linfociti. Permangono centri germinativi attivati.

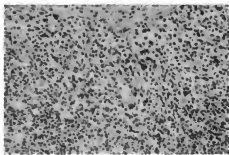



Fig. 4. Trasformazione vascolare dei seni in corso di linfadenopatia generalizzata da HIV: il seno periferico è occupato da neogenesi vascolare capillare.





Digitized by Google

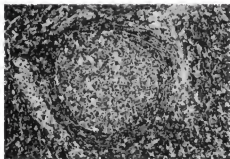



Fig. 5. Follicolo iperplastico in corso di linfadenite follicolare: il centro germinativo è attivato con immagine a cielo stellato; si osservi la mantellare costituita da numerose filiere concentriche di piccoli linfociti.

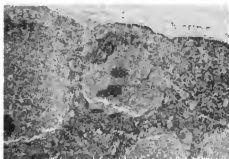



Fig. 6. Linfadenopatia persistente generalizzata da HIV: i centri germinativi sono iperplastici, polimorfi, polimetrici e contengono aggregati di piccoli linfociti. Le zone mantellari sono assenti e le aree paracorticali appaiono attivate.

tuiti dai centri germinativi o centri chiari, popolati, in gran parte, da linfociti B nelle loro diverse fasi di differenziazione antigene-dipendente, come centroblasti e centrociti, immunoblasti, plasmoblasti, rare plasmacellule, da rari linfociti T, da numerosi macrofagi con ampio citoplasma contenenti i corpi tingibili (detriti cromatinici di cellule fagocitate), e dalle cellule accessorie follicolari dendritiche deputate alla presentazione degli antigeni. I centri germinativi sono delimitati dalle aree mantellari, formate da rime concentriche di piccoli linfociti B disposti in filiera e che possono anche essere soggette a iperplasia di grado variabile (fig. 5). Nella loro espansione follicoli contigui possono fondersi fra loro costituendo così follicoli giganti a contorno irregolare.

Una linfadenite cronica follicolare iperplastica accompagnata da abbondante proliferazione plasmacellulare interfollicolare si osserva nell'artrite reumatoide. Le plasmacellule contengono talora inclusi citoplasmatici rotondeggianti (corpi di Russell) costituiti da immunoglobuline. I seni linfatici sono compressi e talvolta contengono polimorfonucleati neutrofili. Aspetti istologici analoghi si osservano nella linfadenite in corso di lue primaria e secondaria, con plasmocitosi interfollicolare e talora microgranulomi formati da cellule epitelioidi ricche di spirochete. Nella lue secondaria si ha inoltre fibrosi capsulare e trabecolare, con vasculite ed endoarterite obliterante.

Nell'ambito delle linfadeniti follicolari iperplastiche va collocata la *malattia di Castleman* o *iperplasia linfoghiandolare gigante*, o *linfadenite con iperplasia giganto-follicolare*. Interessa di frequente i linfonodi del mediastino e va interpretata come l'espressione morfologica di uno stato reattivo della popolazione linfocitaria B; ciò è indicato dalla ipergammaglobulinemia policlonale che non di rado la accompagna, unitamente a sintomi generali quali la febbre e l'anemia. Se ne conoscono due forme istologiche. La prima è quella ialinovascolare che interessa spesso una sola stazione linfonodale e si caratterizza per la progressiva ipoplasia dei follicoli B con evidente ialinizzazione del vaso che li attraversa. L'immagine del follicolo ialinizzato, che è circondato da numerose filiere di piccoli linfociti in cui penetra da un lato il vaso, richiama l'immagine di una caramella con bastoncino (*lollipop* degli AA. inglesi). Le aree interfollicolari sono caratterizzate da iperplasia delle venule ad alto endotelio della paracorticale, e sono popolate per lo più da piccoli linfociti, plasmacellule e immunoblasti.

La seconda varietà, definita plasmacellulare, interessa prevalentemente più stazioni linfonodali ed è più frequentemente sintomatica. A differenza dalla varietà ialinovascolare, è caratterizzata da estesa proliferazione plasmacellulare policlonale nelle aree interfollicolari.

Un cenno a parte merita la linfadenite cronica associata a infezione da virus dell'immunodeficienza acquisita (HIV) o linfadenite persistente generalizzata (PGL) (fig. 6). Questa ha la durata di almeno tre mesi, interessa due o più stazioni linfoghiandolari superficiali (escluse quelle inguinali) e si accompagna solitamente a sintomi costituzionali quali astenia, calo ponderale, diarrea, anoressia, febbre, sudorazione notturna, anemia, piastrinopenia, neutropenia. I linfonodi sono aumentati di volume e sono caratterizzati da uno spiccato aumento del numero dei follicoli, che sono estremamente polimorfi e polimetrici. Le zone mantellari sono spesso ridotte di ampiezza o addirittura assenti. A livello della paracorticale si osserva una caratteristica iperplasia delle venule ad alto endotelio; spesso coesiste attivazione e iperplasia dei macrofagi sinusali. Successivamente compaiono infiltrati di piccoli linfociti T a prevalente fenotipo CD8+ soppressorio nel contesto dei follicoli, accompagnati da microemorragie: questa fase segna l'inizio della lisi dei follicoli con riduzione della dimensione degli stessi e con successiva ialinizzazione dei vasi centrofollicolari. La fase terminale è quella della lisi globale del tessuto linfoghiandolare con deplezione linfocitaria e fibrosi: clinicamente può corrispondere alla sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS) conclamata.

*Linfadenite diffusa*

Rappresenta l'espressione morfologica della attivazione delle aree paracorticali T-dipendenti dei linfonodi. Caratterizza tutte le infezioni virali, ed in modo particolare l'infezione da virus di Epstein-Barr (mononucleosi infettiva), le linfadeniti indotte da vaccinazione con antigeni virali attenuati (morbillo), quelle che accompagnano le reazioni da ipersensibilità a farmaci (difenilidantoina) e, infine, quelle che si instaurano in corso di malattie autoimmuni come il lupus eritematoso sistemico.

Gli aspetti istologici del linfonodo sono dominati dalla iperplasia della paracorticale che può talora portare anche alla scomparsa dei follicoli della corticale. Una caratteristica dell'attivazione di quest'area linfonodale è rappresen-

Digitized by Google

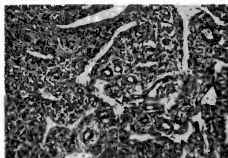



Fig. 7. Linfadenite diffusa: area paracorticale caratterizzata dalla proliferazione di numerosissime venule ad alto endotelio.

tata dalla proliferazione delle sue peculiari strutture vascolari (fig. 7) (venule ad alto endotelio), attraverso le quali i linfociti circolanti migrano per localizzarsi alla loro specifica sede nel tessuto linfatico periferico. La popolazione cellulare della paracorticale attivata è notevolmente polimorfa ed è costituita da piccoli linfociti con contorno nucleare irregolare, immunoblasti con citoplasma basofilo ed evidente nucleolo centrale, dispersi nel contesto del tessuto o raggruppati in piccoli focolai. Sono spesso presenti cellule giganti multinucleate, come accade nella linfadenite secondaria a vaccinazione antimorbillosa (cellule di Warthin-Finkeldey). In talune infezioni virali, e tipicamente nella mononucleosi infettiva, si osservano immunoblasti binucleati con morfologia che richiama molto da vicino quella di cellule neoplastiche (cellule binucleate di Reed-Sternberg della malattia di Hodgkin). Nella paracorticale attivata possono essere particolarmente numerosi gli eosinofili e i mastociti.

L'iperplasia della paracorticale si accompagna talvolta all'attivazione delle altre aree del linfonodo: si ha così iperplasia follicolare e attivazione sinusale (v. anche sopra, *linfadenite follicolare iperplastica* e *linfadenite sinusale*). In certi casi di linfadenite diffusa con vasculite intralinfoghiandolare, come nel lupus eritematoso sistemico, è possibile che si formino focolai, anche estesi, di necrosi.

Una linfadenite cronica con spiccata attivazione della paracorticale è la linfadenite dermatopatica: interessa tipicamente i linfonodi che drenano territori cutanei con dermatite esfoliativa. È caratterizzata da espansione attiva della paracorticale che si accompagna alla proliferazione di cellule del sistema accessorio provenienti dalla cute interessata: sono le cellule di Langerhans (v. TEGUMENTARIO SISTEMA, XIV, 1901), dotate di ampio citoplasma eosinofilo e con nucleo a contorno irregolare. Alcune di queste cellule contengono emosiderina, melanina o pigmenti lipidici. Anche in questa particolare forma di linfadenite diffusa vi può essere una concomitante attivazione delle aree B-dipendenti con iperplasia follicolare.

*Linfadenite mista*

È noto che le risposte immunitarie evocate dalla maggior parte degli stimoli antigenici coinvolgono globalmente le popolazioni linfocitarie linfonodali, sia pure con intensità di volta in volta diversa. Ciò trova riscontro morfologico in particolari forme di linfadenite già trattate, come la cronica sinusale, la follicolare iperplastica e la diffusa. Vanno comunque menzionate separatamente delle particolari linfadeniti che si discostano ulteriormente dai vari tipi di reazione del tessuto linfoghiandolare sin qui discussi. Ciò è dovuto non soltanto al più evidente coinvolgimento delle popolazioni linfatiche sia B che T, ma soprattutto alla particolare reattività delle cellule accessorie e dei granulociti polimorfonucleati.

Per sottolineare il coinvolgimento globale delle varie componenti del sistema immune a fianco all'espressione della reazione cellulare più aspecifica, queste linfadeniti vengono denominate *miste*. Vi appartiene la linfadenite da toxoplasma che pur potendo interessare qualunque stazione linfonodale, è tuttavia più frequente nei linfonodi laterocervicali e retronucali; in questo caso configura la malattia di Piringer-Kuchinka. Gli aspetti istologici sono caratterizzati da iperplasia follicolare accompagnata dalla presenza nella corticale di numerosi microgranulomi epitelioidi secondari ad attivazione cronica dei macrofagi. Il quadro istologico qui descritto non è tuttavia patognomonico per infezione da *Toxoplasma gondii*, poiché può accompagnare anche le fasi iniziali di altre linfadeniti infettive come quella tubercolare, quella luetica, e quella da *Leishmania donovani* oltre che la sarcoidosi (v. sotto).

Fra le malattie infettive caratterizzate da linfadenite granulomatosa vanno inoltre ricordate: la tubercolosi, con focolai di necrosi caseosa delimitati da un vallo formato da macrofagi, cellule epitelioidi e cellule giganti multinucleate definite cellule di Langans; la brucellosi, che può dare una linfadenite simil-tubercolare; la malattia da graffio di gatto; il linfogranuloma venereo e la tularemia. Sono queste tutte linfadeniti croniche caratterizzate dalla presenza di granulomi con necrosi suppurativa centrale dove abbondano i neutrofili (fig. 8), nel contesto di una linfadenite follicolare iperplastica.

Altra linfadenite necrotizzante, ad etiologia ancora ignota, è la linfadenite di Kikuchi: descritta nel 1972, predilige il sesso femminile e le stazioni laterocervicali. Il quadro istologico è dominato da focolai multipli di necrosi privi di neutrofili, commisti a immunoblasti e a macrofagi (v. KIKUCHI, MALATTIA DI*).

Una linfadenite, dominata dalla presenza di numerosi granulomi epitelioidi a contorno netto e solitamente privi di necrosi o con piccoli focolai centrali di necrosi similfibrinoide, è rappresentata dalla localizzazione linfoghiandolare della sarcoidosi, malattia probabilmente dovuta a un'alterazione dell'immunità T. Nei granulomi si osservano cellule giganti multinucleate tipo Langans, talora contenenti cristalli di ossalato di calcio. Il processo granuloma-

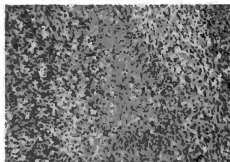



Fig. 8. Linfadenopatia da graffio di gatto: si noti un granuloma costituito da un focolaio di necrosi suppurativa, circondato da cellule epitelioidi e macrofagiche.





Digitized by Google

toso si accompagna a ipoplasia del tessuto linfatico circostante che molto spesso è rappresentato solo da rari linfociti non più organizzati in follicoli.

Una linfadenite granulomatosa gigantocellulare non necrotizzante può comparire anche in linfonodi drenanti carcinomi, come già descritto per le linfadeniti sinusali.

**Note di terapia delle linfadeniti**

Una tumefazione linfoghiandolare isolata, che persista in assenza di sintomi di infiammazione o di segni di colliquazione per più di tre settimane, e che non risponda a trattamento antiflogistico e antibiotico, va asportata chirurgicamente, non tanto a fini terapeutici, ma per accertarne la natura che può essere reattiva o neoplastica primitiva o metastatica. Se, viceversa, comparissero segni di rammollimento, l'indagine batteriologica e citologica sull'agoaspirato potrà dare una risposta al quesito etiologico, permettendo così sia di instaurare una antibioticoterapia mirata, che di rinviare o evitare l'exeresi del linfonodo. Tuttavia in casi con particolare rischio di fistolizzazione (linfadenite tubercolare), o in presenza di una linfadenite acuta da piogeni resistente alla terapia antibiotica, sarà necessaria la asportazione del linfonodo.

Nei casi in cui l'istologia consenta di appurarne la natura infettiva (tubercolosi, toxoplasmosi, lue, etc.) o disreattiva (sarcoidosi, lupus eritematoso sistemico, artrite reumatoide) la definizione della etiologia dell'affezione sarà notevolmente semplificata, e così l'indirizzo terapeutico successivo.

Frequentemente l'indagine istologica depone per una linfadenite reattiva aspecifica; a questa non dovrà far seguito alcuna terapia. Analogamente non necessitano di terapia specifica le linfadeniti sistemiche, espressione di infezioni virali, come ad es. quelle in corso di mononucleosi infettiva e di rosolia.

**Bibliografia**

Baroni C. D., Uccini S., *Lymph Nodes in HIV Positive Drug Abusers with Persistent Generalized Lymphadenopathy: Histology, Immunohistochemistry and Pathogenetic Correlations*, in *Progress in AIDS Pathology*, 1990, vol. II, Field and Wood, New York.

Ioachim H. L., *Lymph Node Biopsy*, 1982, Lippincott, Philadelphia.

Jaffe E. S., *Surgical Pathology of the Lymph Nodes and Related Organs*, in *Major Problems in Pathology*, 1986, vol. 16, Saunders, Philadelphia.

Rosai J., *Ackerman's Surgical Pathology*, 1989, Mosby, St. Louis.

Sternberg S. S., *Diagnostic Surgical Pathology*, 1989, Raven Press, New York.

CARLO D. BARONI E VITO L. BURGIO

(Gli AA. ringraziano Maria Grazia Saladino)

**LINFOCHINE E CITOCHINE**: v. INTERLEUCHINE* (col. 3883); INFIAMMAZIONE* (col. 3737).

## LINFOCITI [v. vol. VIII, col. 1868]

SOMMARIO



**Premessa**

Le cellule linfocitarie B e T sono state differenziate storicamente per alcune caratteristiche di membrana: le prime sono infatti dotate di immunoglobuline di superficie, mentre le altre posseggono recettori per i globuli rossi di pecora. Per uno studio accurato delle varie popolazioni cellulari è necessario utilizzare vari metodi di riconoscimento che consentano di isolare una determinata componente all'interno di un insieme cellulare. Ne deriva che la situazione ideale sarebbe quella di un sistema nel quale a ogni componente dello stesso fosse possibile attribuire un *marker* specifico (morfologico e/o funzionale). Nel corso degli ultimi dieci anni, con l'introduzione in laboratorio di nuovi strumenti (citometria a flusso [v.*]) e la disponibilità di anticorpi monoclonali (v. MONOCLONALI ANTICORPI*) sono stati realizzati notevoli progressi nella conoscenza di alcuni aspetti essenziali (morfologici e funzionali) relativi alla cellula linfocitaria. Attualmente l'uso degli anticorpi monoclonali ha consentito il riconoscimento di numerose molecole presenti sui linfociti, e il loro impiego risulta oggi in qualche modo preliminare a un approccio riguardante la specificità funzionale delle diverse sottopopolazioni.

Durante le fasi di differenziazione del sistema linfatico dalla cellula staminale pluripotente, ha un'importanza cruciale il ruolo svolto dal microambiente di due organi primari: il timo e il midollo osseo. Durante l'ontogenesi la produzione di ormoni timici induce una maturazione selettiva delle cellule che transitano all'interno del timo stesso, così come a livello midollare si ha un'induzione delle cellule che si orientano verso la produzione di anticorpi. Tale schema di differenziazione, storicamente acquisito nelle sue linee essenziali, si è oggi arricchito di numerosi aspetti che consentono una migliore comprensione delle diverse fasi ontogenetiche e funzionali.

**I linfociti B e la genesi della diversità anticorpale**

La possibilità di produrre grandi quantità di anticorpi, ciascuno con la sua propria specificità antigenica, si basa sulla ricombinazione di geni durante la fase di maturazione preliminare del l. B (v. anche: IMMUNITÀ*). È nota la localizzazione dei geni delle immunoglobuline (v.*) sui cromosomi umani: le regioni competenti per le catene pesanti e le due leggere k e λ si trovano rispettivamente sui cromosomi 14, 2 e 22. Il processo di differenziazione è correlato al riarrangiamento dei geni specificamente deputati alla codificazione per le catene H e L. Nella molecola di anticorpo le catene H e L comprendono una parte costante e una variabile. Nella regione variabile delle due catene, sono identificabili sequenze ipervariabili e sequenze costanti. La monospecificità della risposta cellulare B dipende da un meccanismo di esclusione allelica che determina l'attivazione dei geni nell'ambito dei 6 *pool* disponibili (3 di derivazione materna e 3 paterna). I geni dei sottogruppi appartenenti alle regioni variabili (V) delle catene k, λ e μ si uniscono ai frammenti delle regioni costanti durante il processo di maturazione e differenziazione, con la presenza di un altro frammento di giunzione (*joining*; J) e, solo per il cromosoma 14, mediante la partecipazione di un'ulteriore frazione D che si interpone tra V e J.

Il processo di riarrangiamento genico percorre una tappa iniziale in cui il DNA dell'anticorpo è ancora in una fase *germ-line*; successivamente, si ha la strutturazione del complesso VDJ (parte variabile della catena pesante), assemblata con i geni della regione costante ($C_\mu$ e $C_\delta$).

L'identificazione di una catena μ intracitoplasmatica consente la designazione cellulare di l. pre-B. Lo stadio successivo della differenziazione concerne il riarrangiamento dei geni della catena leggera k. Nella maggior parte dei casi viene sintetizzata una catena leggera di tipo k che è in grado di combinarsi con la catena pesante μ. Ne risulta una struttura dimerica che si lega alla membrana della cellula, con la definizione morfofunzionale di l. B maturo. Quando la catena *k* non è prodotta, l'arrangiamento coinvolge direttamente i geni della catena λ. In pratica, la costruzione





Digitized by Google

di un anticorpo deriva da un montaggio per moduli e da successive riorganizzazioni di frammenti di DNA (*esoni*: segmenti geniei che codificano proteine; *introni*: sequenze non informative interposte tra gli esoni che, pur non codificando per le proteine, hanno un ruolo importante nel processo di ricombinazione).

Numerosi segmenti V (circa 300) costituiscono il complesso informativo della regione variabile sul cromosoma 14. Una sequenza definita *leader* precede ciascun segmento V. Le sequenze di DNA per la parte costante comprendono i *domains* per le varie sottoclassi delle catene pesanti, inclusa la frazione relativa alla regione cardine (*hinge-region*) e la parte del cosiddetto segmento carbossiterminale. Questo definisce le immunoglobuline di membrana ancorate alla superficie cellulare o le immunoglobuline secrete al termine della maturazione.

Alla fase di ricombinazione del DNA fa seguito un processo di trascrizione del RNA (viene a costituirsi il così detto *primary transcript*) che comprende le sequenze complete degli introni ed esoni. Dal *primary transcript* parte un

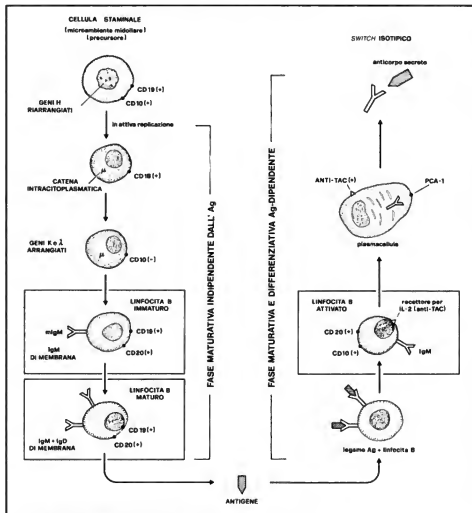



Fig. 1. Schema di alcuni marcatori correlati alle diverse fasi di maturazione dei l. B.



Digitized by Google

processo di *splicing* con il quale si struttura il vero e proprio RNA messaggero (mRNA) che consente la sintesi della catena proteica.

Una cellula B è in grado di produrre 5 differenti classi (isotipi) di anticorpi, mantenendo invariato il sito combinatorio specifico dell'antigene. Questo fenomeno è consentito dalla particolare dislocazione dei geni C della catena pesante. Sul cromosoma 14, le componenti isotipiche hanno la seguente distribuzione nella direzione 5' → 3': μ, δ, γ3, γ1, ψ, α1, γ2, γ4, ε, α2. Nella trascrizione iniziale i geni *μ* e *δ*, che hanno una collocazione adiacente, dopo lo *splicing* danno luogo a specifici mRNA rispettivamente μ e δ. Il prodotto finale della molecola di anticorpo ha una variante legata alla membrana cellulare e una forma solubile che verrà poi secreta nel sangue.

Le immunoglobuline di membrana situate a livello dei l. B svolgono il ruolo di recettori di superficie e, dopo la stimolazione esercitata dall'antigene, si trasformano nella variante secretoria. Lo *switch* che si verifica dalla forma *membrane-bound* verso quella secretoria si attua per un processo di nuova trascrizione di RNA che risulta indotto dal legame della cellula B con l'antigene stesso. Un secondo tipo di *switch*, che si manifesta nel corso della risposta all'antigene, riguarda le diverse classi di anticorpi prodotti (*class switch*).

Sostanzialmente, tutte le cellule B iniziano la loro funzione di cellule secretorie per mezzo di anticorpi IgM; un gran numero di esse, tuttavia, modifica la struttura della propria catena pesante dando luogo alla formazione di altre classi di anticorpi (per es. IgG o IgA) che mantengono inalterato il sito di combinazione per l'antigene con una diversa aggregazione della struttura Fc.

Due tappe sequenziali sembrano essere necessarie per l'attuazione dello *switch* isotipico. La fase di costruzione terminale per ogni anticorpo, relativamente alla struttura della parte pesante della molecola che conferisce a esso la specificità isotipica, dipende proprio dal meccanismo di *switch*. Il tratto S (*switch*) a livello del DNA precede le sequenze relative a ogni catena pesante, a eccezione della frazione δ. In sostanza, dopo il riarrangiamento della regione VDJ, si ha una ricombinazione con i segmenti μ e δ. Per una certa fase si osserva una coesistenza di mRNA μ e δ.

Successivamente, scatta il vero e proprio *switch* isotipico con la produzione dell'immunoglobulina. Benché i meccanismi che regolano lo *switch* non siano ancora completamente conosciuti, possiamo agevolmente schematizzare le tappe del processo maturativo B in due fasi: quella antigene-indipendente (fino alla cellula B matura, con μ e δ contemporaneamente espressi) e quella antigene-dipendente (interazione dell'antigene con il l. maturo e risposta primaria IgM, a cui fa seguito lo *switch* isotipico). Ovviamente, tutti i riarrangiamenti genetici che si verificano prima dell'interazione fra cellula e antigene sono del tutto indipendenti da quest'ultimo (fig. 1). Dopo l'interazione tra antigene e l. B, inizia un complesso di eventi che possono essere studiati sia sotto il profilo genetico che morfologico. Si assiste a una triade di fenomeni usualmente noti come attivazione (segnale di avvio), proliferazione e differenziazione. È questo il fulcro della teoria della selezione clonale, basata sull'asserzione che l'antigene attua una selezione sui l. B che hanno acquisito un recettore specifico di membrana (immunoglobulina) durante la maturazione. A un momento di tipo «qualitativo» fa quindi seguito una serie di processi di natura «regolatrice», modulati da vari fattori di crescita (*B cell growth factors*) e differenziazione (*B cell differentiation factors*).

I l. B in proliferazione hanno la capacità di trasformarsi in piccoli l. memoria, oppure di evolvere a plasmacellule, in grado di sintetizzare e secernere anticorpi. Per garantire una sequenza efficace di eventi (1. riconoscimento specifico dell'antigene; 2. tolleranza/attivazione/memoria immunologica; 3. sintesi e secrezione di anticorpi), alle funzioni proprie dei l. B si affiancano quelle delle *interleuchine* (v.*). Con questo termine si identificano proteine che recano segnali aspecifici (proliferazione o differenziazione) nel reticolo cellulare del sistema immunocompetente. Le interleuchine prodotte da l. prendono il nome di *linfochine*, mentre le *monochine* sono molecole derivate da monociti (o macrofagi). Vari sinonimi sono stati usati in letteratura per identificare le varie componenti di crescita e differenziazione; comunque oggi la terminologia si è uniformata e ciascuna molecola viene indicata con la sigla IL, seguita da un numero. Si conoscono almeno 9 interleuchine, ma per alcune le informazioni acquisite risultano più complete (IL-1, prodotta da macrofagi; IL-2 prodotta da l. T attivati; altre, prodotte prevalentemente da l. CD4+ o macrofagi). Le IL-1, 2, 4, 6 sono attive sui l. B e svolgono azioni combinate. Tuttavia, per alcuni fattori si ha una maggiore efficacia a seconda dello stato maturativo o funzionale delle cellule bersaglio (per es. IL-1 e IL-5 agiscono prevalentemente su l. B attivati, mentre IL-4 facilita il passaggio di cellule B in fase quiescente nel ciclo cellulare [fase S]).

Infine, bisogna citare l'attuale possibilità di riconoscimento, con l'uso di opportuni marcatori, delle cellule B nei diversi stadi maturativi o funzionali. Questo aspetto è importante non soltanto nell'ambito della fisiologia cellulare, ma anche per risvolti clinici pratici. Infatti varie malattie linfoproliferative (leucemie, linfomi) possono essere classificate in funzione dello stadio maturativo delle cellule interessate, con particolare riguardo alla possibilità di distinguere tra forme più o meno mature o dotate di una maggiore o minore aggressività. L'impiego degli anticorpi monoclonali è stato di grande utilità sotto questo profilo, consentendo di semplificare alcuni punti della ricerca e dell'applicazione pratica. Si ricordano, per es., alcuni specifici *markers*: immunoglobuline di membrana (cellula B matura), il recettore per il virus di Epstein Barr (C3d), il recettore per eritrociti di topo (cellula B non ancora completamente matura), antigeni di istocompatibilità di classe II codificati dal MHC (*Major Histocompatibility Complex*), CD19 (si manifesta nelle primissime fasi dell'ontogenesi), CD10 (più noto come CALLA) presente su cellule B che non hanno ancora riarrangiato per le catene leggere (cfr. anche: CITOMETRIA A FLUSSO*, tab. III, col. 1690).

**Ontogenesi dei linfociti T e risposta immunitaria cellulo-mediata**

Un passo fondamentale nella distinzione delle sottopopolazioni linfocitarie T è stato compiuto con la possibilità di identificare proprietà specifiche di ciascun gruppo. Storicamente, il salto qualitativo si è compiuto per mezzo della metodica delle rosette E: con questa semplice tecnica di laboratorio si è dimostrato che i l. T possono legarsi a emazie di montone, dando luogo alla figura della rosetta (un l. circondato da emazie) (v. LINFOCITI, VIII, 1872).

I l. B non posseggono tale proprietà, ma esprimono sulla loro membrana le immunoglobuline. Nel corso di una risposta immunitaria, come si è visto, i l. B attivati si trasformano in plasmacellule e producono anticorpi. Le cellule T, invece, includono sottopopolazioni con diverse proprietà funzionali e il loro ruolo varia quando interagiscono con l'antigene. Esistono l. T adiuvanti (o T *helper*, come vengono comunemente definiti) che cooperano alla risposta immunitaria B e svolgono un ruolo di coordinamento anche nei confronti di altre cellule; l. T soppressivi (T *suppres-*





Digitized by Google

*sor*); l. T citotossici che svolgono funzioni di citotossicità antitumorale o antivirale; linfociti TDH (*delayed hypersensitivity*) che entrano in gioco in fenomeni di ipersensibilità ritardata.

L'analisi morfofunzionale dei l. si è molto arricchita grazie alla disponibilità di anticorpi monoclonali, in grado di riconoscere marcatori specifici che si trovano sulle cellule T e che vengono espressi selettivamente (o per periodi limitati di tempo, per es. in fase di maturazione) su una frazione cellulare. Inoltre, per mezzo delle moderne tecniche di biologia molecolare è stato identificato il recettore per l'antigene presente sui l. T (*T cell receptor*; TCR). Questo recettore è costituito da due catene con p. m. leggermente differente, che vengono tenute assieme da ponti disolfuro. Il recettore dimerico ha un p. m. di 90 kd. Le catene sono identificate con le lettere α e β e presentano, come le immunoglobuline di membrana, una frazione variabile (in grado di combinarsi con l'antigene) e una parte legata alla membrana stessa della cellula.

La possibilità di disporre di un anticorpo monoclonale rivolto verso la sua struttura costante permetterebbe di riconoscere in modo selettivo un l. T. Motivi tecnici rendono complicato tale approccio e per una identificazione selettiva del marcatore si utilizza un complesso molecolare adiacente alle due catene α e β. Tale complesso a sua volta è formato da due catene del p. m. di 20 kd e una glicoproteina leggermente più grossa (25 kd). L'insieme è definito antigene T3 (o complesso T3). Esso è facilmente identificato da un anticorpo monoclonale. Poiché il recettore è definito anche Ti, è d'uso riferirsi all'insieme descritto come complesso T3-Ti.

I geni che codificano per le catene α si trovano sul cromosoma 14, quelli che codificano per la catena β sul cromosoma 7. La strutturazione dei geni e la dinamica di assemblaggio durante le fasi di riarrangiamento danno un quadro organizzativo assimilabile a quello descritto per le immunoglobuline. Ne deriva in tal modo un numero amplissimo di specificità recettoriali per le diverse combinazioni antigeniche. La disponibilità di anticorpi monoclonali rivolti verso molecole specifiche di una cellula o di una fase biologica in una particolare popolazione cellulare e la attuale possibilità di isolare cellule relativamente purificate (mediante il FACS, *Fluorescence Activated Cell Sorter*) hanno permesso di eseguire studi sul rapporto funzione-fenotipo e, mediante allestimento di co-colture, hanno consentito di comprendere gli effetti più rilevanti che è in grado di esercitare una particolare sottopopolazione di cellule. Per es., è noto che i l. T CD3+, sono divisibili in due gruppi: CD4+, CD8− e CD4−, CD8+. La popolazione CD4+ ha complessivamente un effetto stimolante (adiuvante) su altri l. (B; T) e a essa è stato attribuito l'appellativo *helper/inducer*. Poiché, al contrario, per i CD8+ e CD4− si osserva un'azione prevalentemente soppressoria o citolitica, si usa la definizione di cellule *suppressor*. La correlazione tra *marker* di membrana e funzione è però in qualche modo approssimativa e in generale può risultare del tutto imprecisa, dal momento che gli esperimenti compiuti per comprendere tale fenomeno si svolgono a livello di «popolazioni» di cellule diverse. Oggi il problema è in via di risoluzione grazie agli studi di clonazione cellulare, che consentono di approfondire con buona accuratezza gli aspetti funzionali delle varie popolazioni T.

Nell'ambito delle sottopopolazioni linfocitarie T, svolgono un ruolo importante i cosiddetti l. T citotossici che, in genere, posseggono il fenotipo CD8+. La loro attivazione parte dal riconoscimento dell'antigene, in genere associato alle molecole MHC di classe I. La loro funzione è quindi incrementata dall'IL-2 prodotta dal l. T *helper* che, riconosciuto l'antigene nell'ambito delle cellule APC (*Antigen Presenting Cells*: cellule capaci di presentare l'antigene) dotate di MHC di classe II, stimolano la proliferazione dei l. T citotossici. Recentemente, sono anche state identificate alcune attività citotossiche non antigene-orientate, che riguardano particolari popolazioni cellulari (*Lymphokine Activated Killer*: LAK) in grado di uccidere cellule tumorali.

Nel sistema complesso dell'immunità cellulare, come già ricordato, un ruolo critico è svolto dalla cellula T *helper/inducer* (T*h*). Questa cellula esercita un'azione immunoregolatoria per mezzo delle linfochine; attraverso di esse i T*h* regolano proliferazione e differenziazione delle cellule B, facilitano la maturazione delle sottopopolazioni citotossiche, inducono la produzione di altri mediatori chimici e in qualche modo sono in grado di stimolare l'attività LAK e di incrementare le funzioni delle cellule *natural killer* (NK). La produzione di interferone (v.*), in particolare di interferon-γ, anche in relazione al ruolo dell'IL-2, probabilmente assume un significato essenziale nel fenomeno di ampliamento della risposta immunitaria.

I l. T sono presenti sia nel distretto circolante (sangue e linfa) che nei tessuti linfatici. Un elemento caratteristico dei l. T consiste nella modalità con la quale essi identificano l'antigene. Infatti l'interazione tra l. T e antigene avviene quando quest'ultimo è dislocato sulla superficie di membrana in una cellula che esprima molecole appartenenti al complesso maggiore di istocompatibilità (*Major Histocompatibility Complex:* MHC) (v. HLA*). In pratica, l'antigene viene elaborato in modo tale che le sue componenti a struttura sequenziale vengano a perturbare il complesso MHC: in sostanza, è ipotizzabile che lo stimolo informativo consista proprio nella modificazione del fenotipo MHC. D'altra parte è noto che un processo di attivazione può innescarsi anche attraverso vie alternative (antigene-indipendenti) che non includono il complesso TCR-CD3. È noto per es. che, *in vitro*, anticorpi monoclonali rivolti verso alcune strutture di membrana (CD2, CD28) sono in grado di stimolare la proliferazione delle cellule T.

Si è già detto come la struttura del recettore presente sul l. T sia un eterodimero α-β, associato a un complesso molecolare stabile T3. Un terzo gene è stato recentemente identificato, chiamato γ, il cui prodotto molecolare è una glicoproteina di 55 kd: tale prodotto si associa al complesso T3 quando le cellule T non sono dotate del tipico eterodimero α/β. La definizione, ancora più recente, del complesso γ/δ rappresenta un ulteriore passo verso la conoscenza della struttura recettoriale. Si deve però ricordare che le molecole γ sono presenti solo nel 2-3% dei l. T derivati da soggetti normali, mentre i valori sembrano modificarsi sostanzialmente in corso di alcune patologie (rari deficit di l. T). Sebbene alcuni aspetti essenziali del fenotipo γ/δ siano ancora da valutare, esistono dati che suggeriscono per questa particolare popolazione cellulare il ruolo di sorveglianza «effettrice» nei confronti di cellule neoplastiche.

Sotto il profilo ontogenetico e fisiopatologico la scoperta del TCR ha stimolato numerose ricerche, che si sono attualmente concretizzate nella definizione di due stipiti cellulari di l. T maturi: i l. con TCR α/β e quelli con TCR γ/δ. Nel feto umano e negli uccelli, l'arrangiamento del gene δ si ha prima della comparsa del TCR α/β. In generale, il modello di ontogenesi per la serie T prevede una fase pretimica (o meglio extratimica) localizzata a livello del sacco vitellino, del fegato fetale e del midollo osseo, cui fa seguito un processo di maturazione intratimica con due linee evolutive (quella con il recettore γ/δ e quella α/β). Nel sangue periferico la concentrazione di TCR (γ/δ) è attorno





Digitized by Google

al 2%; a differenza degli stipiti α/β, essi sono privi sia dell'antigene CD4 che CD8. Entrambe le linee cellulari T mature esprimono alcuni particolari antigeni di superficie (CD3, CD2) e un antigene presente in tutta la fase di maturazione della linea T (CD7). Da alcuni ricercatori (Palacios) i precursori delle cellule T, nei quali i geni TCR non sono ancora andati incontro a riarrangiamento, sono stati identificati come pro-T, mentre pre-T sarebbero le cellule con struttura genomica riarrangiata senza avvenuta espressione fenotipica di TCR sulla membrana. Durante la permanenza nel timo i timociti corticali coesprimono gli antigeni CD4 e CD8; nella midollare sono già distinguibili due sottopopolazioni differenziate (CD4−CD8+; CD4+CD8−) che esprimono l'antigene CD3. Funzionalmente, la presenza del CD3 ha estrema importanza, non soltanto perché indica l'avvenuta maturazione della cellula T, ma perché essa è intrinsecamente correlata al processo di *binding* fra TCR e antigene. L'attivazione dei l. T segue una serie di eventi mediati da un incremento del flusso di ioni calcio che confluiscono dall'esterno all'interno della cellula. L'*input*, come si è visto, può derivare da un legame con il complesso antigene MHC o da una via alternativa.

V. anche: IMMUNITÀ*.

**Bibliografia**


Acuto O., Fabbi M., Bensusson A., Milanese C., Campen T. S., Royer M. D., Reinhers E. L., *J. Clin. Immunol.*, 1985, **5**, 141.
Cooper M. D., Kearney J., Scher I., *B Lymphocytes*, in Paul W. E., *Foundamental Immunology*, 1984, Raven Press, New York.
Gaffman R. L., Weissmann I. I., *J. Mol. Cell Immunol.*, 1983, **1**, 31.
Graves M. F., Owen J. S. T., Raff M. C., *T and B Lymphocytes: Origins, Properties and Roles in Immune Responses*, 1973, Excerpta Medica, Amsterdam.
Haynes B. F., Denning S. M., Singer K. H., Kurtzberg J., *Immunol. Rev.*, 1989, **10**, 87.
Lefranc M. P., Forster A., Rabbitts T. H., *The T Cell Receptor*, in Kappler J., Davis M. eds., vol. 73, 1987, Liss Arluc, New York, pp. 25-29.
Owen J. J., *T Ontogenesis of Lymphocytes*, in Loor F., Roelants G. E. eds., *B and T Cells in Immune Recognition*, 1977, Wiley, New York, pp. 21-34.
Palacios R., Pelkonen J., *Immunol. Rev.*, 1988, **104**, 5.
Takihara Y., Tkachuk D., Michalopoulos E., Champagne E., Reimann J., Minden M., Mak T. W., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1988, **85**, 6097.


FERNANDO AIUTI E GIUSEPPE LUZI

**LINFOMI** [v. vol. VIII, col. 1901]

SOMMARIO GENERALE



## LINFOMI NON-HODGKIN

SOMMARIO



### Introduzione

I linfomi (v.) e le leucemie (v.; v.*) sono neoplasie del sistema immunitario che coinvolgono linfociti, plasmacellule, monociti e cellule *natural killer* (NK). Queste neoplasie provocano una serie di effetti sul sistema immunitario o a causa di una perdita di alcune funzioni o per alterata funzione delle cellule neoplastiche. Grazie alle crescenti conoscenze sulle funzioni specifiche e sugli immunofenotipi delle cellule normali del sistema immunitario, e al concetto correntemente accettato che l. e leucemie riflettono espansioni clonali di cellule a differenti stadi della normale differenziazione cellulare, l'uso degli immunofenotipi è divenuto estremamente utile per identificare i tipi di l. e di leucemie che presentano un differente quadro clinico e rispondono diversamente alla terapia, tipi che altrimenti non si possono identificare semplicemente con i caratteri morfologici. Sebbene l. e leucemie siano spesso considerati come malattie differenti, la grande maggioranza delle esperienze e delle osservazioni cliniche dimostra che essi sono essenzialmente la stessa neoplasia, che presenta tuttavia differenti modalità di insorgenza, di distribuzione e di diffusione della malattia.

### Considerazioni generali

Le neoplasie del sistema immunitario si possono presentare localmente come l., ma sono spesso diffuse già al momento della diagnosi, presumibilmente per la naturale capacità delle cellule di circolare. D'altronde i l. subiscono frequentemente modificazioni nella morfologia e nel comportamento clinico: durante il decorso della malattia, per es., cellule ben differenziate si trasformano in cellule maligne che si moltiplicano rapidamente. Alcune di queste neoplasie sono facilmente diagnosticate con gli esami istologici o citologici, ma altre sono più complesse e richiedono una caratterizzazione citochimica, immunologica, ultrastrutturale e cariotipica per una precisa diagnosi. Anche le cellule ben definite dal punto di vista morfologico possono essere eterogenee dal punto di vista immunofenotipico e associate a differenti comportamenti clinici.

L'aspetto morfologico delle neoplasie di cellule immunopoietiche è il risultato di numerosi fattori, tra cui: la contemporanea presenza di cellule neoplastiche e di cellule normali, o di cellule neoplastiche e di cellule reattive a differenti stadi del ciclo cellulare o della sequenza di trasformazione, e le differenze nelle caratteristiche della crescita cellulare. Nell'iniziale interessamento dei linfonodi la localizzazione delle cellule linfomatose può aiutare a determinare la cellula d'origine; così i l. a cellule B iniziano nei follicoli, mentre i l. a cellule T nelle aree paracorticali.

Il decorso clinico di queste neoplasie è correlato alla proporzione tra cellule proliferanti e cellule non proliferanti. Neoplasie come la leucemia linfoide cronica a cellule B (B-CLL) sono diffuse ma ben tollerate, poiché vi è una predominante proporzione di piccoli linfociti non proliferanti. Al contrario il l. di Burkitt (v. BURKITT, LINFOMA DI*) presenta una prevalenza di cellule proliferanti. La capacità di un processo a lenta evoluzione, come la leucemia linfoide a cellule B, di trasformarsi in un l. immunoblastico, che si può moltiplicare rapidamente, illustra ulteriormente l'eterogeneità di tali neoplasie. Gli stimoli o i meccanismi che inducono queste trasformazioni sono per lo più sconosciuti, ma in alcuni casi essi dipendono da una seconda mutazione. Queste trasformazioni possono creare delle incertezze dal punto di vista diagnostico, ma sono di estrema importanza terapeutica. Un ulteriore problema è lo sviluppo di una seconda, nuova neoplasia alcuni anni più tardi, apparentemente come risultato della chemio- o della radioterapia eseguite per la neoplasia primitiva.

In conclusione, le neoplasie di cellule del sistema immunitario sono complesse e possono essere difficili da diagnosticare. Nonostante tale complessità, un sistematico ap-





Digitized by Google

proccio diagnostico è reso possibile dal riconoscimento dei diversi tipi cellulari, morfologicamente distinti, e dagli aspetti che assume l'interessamento dei tessuti, grazie anche all'impiego di tecniche immunologiche, citochimiche, citogenetiche e di biologia molecolare.

**Aspetti immunologici**

Le caratteristiche immunologiche delle neoplasie del sistema immunitario riflettono quelle delle rispettive cellule di origine. Poiché ogni neoplasia rappresenta un'espansione clonale di un normale tipo cellulare immunopoietico, e poiché tali cloni possono conservare o meno le loro originarie funzioni o presentarle alterate, i risultati immunologici finali variano considerevolmente. Poiché numerose neoplasie linfoidi sono a cellule B, la più frequente alterazione immunologica è collegata alla produzione di immunoglobuline. Le neoplasie a cellule T possono produrre un eccesso di alcune citochine, ma spesso non provocano alterazioni funzionali.

Le cellule dei l. o delle leucemie a cellule B non rispondono di solito ad antigeni o mitogeni, con la trasformazione *in vitro* o con la produzione di immunoglobuline, ma l'aggiunta di cellule T *helper* normali o la rimozione di celule T *suppressor* del paziente può parzialmente correggere tale difetto.

**Caratterizzazione immunologica**

Le metodiche diagnostiche che utilizzano anticorpi, in particolare anticorpi monoclonali, applicate a cellule poste su vetrini o in sezioni istologiche, comprendono essenzialmente l'immunofluorescenza (IF) e la citochimica immunoenzimatica (ICC). Studi analoghi possono essere eseguiti su sospensioni cellulari di sangue, midollo osseo o di tessuti linfoidi utilizzando la citometria a flusso (FCM). L'immunocitochimica ha il vantaggio di visualizzare le cellule *in situ*, permettendo la localizzazione morfologica degli antigeni. Questa tecnica è utile per lo studio degli aspetti eterogenei delle cellule normali e neoplastiche nei vetrini o nelle sezioni, ma presenta gli svantaggi di una aspecifica colorazione di base, di un'interpretazione approfondita, di una riproducibilità inadeguata, di un piccolo numero di cellule esaminate, di una relativa incapacità di rilevare basse concentrazioni di antigeni cellulari di superficie. La citofluorimetria presenta lo svantaggio di non permettere la visualizzazione delle cellule che vengono analizzate e la disorganizzazione delle cellule dalla struttura dei tessuti, ma dal punto di vista quantitativo analizza un gran numero di cellule in un breve periodo di tempo, fornisce un'analisi multiparametrica delle singole cellule e presenta un'estrema sensibilità nel dimostrare la presenza di antigeni di superficie o di recettori. La citofluorimetria è veramente utile per la dimostrazione di rare cellule nel midollo osseo o nei tessuti linfoidi nelle iniziali fasi di stadiazione o nelle recidive delle neoplasie emopoietiche.

In letteratura esistono numerosissimi studi immunofenotipici su l. e leucemie, talvolta con i risultati più diversi. Tali discordanze sono in parte dovute al fatto che alcuni studi sono stati basati sull'analisi di sospensioni cellulari esaminate in citofluorimetria, mentre altri sono stati eseguiti su cellule poste su vetrini o sezioni istologiche utilizzando metodiche immunocitochimiche, in modo particolare la tecnica dell'immunoperossidasi. Inoltre sono stati usati differenti reagenti e differenti classificazioni.

**Clonalità**

Le neoplasie linfoidi rappresentano espansioni clonali delle cellule a differenti stadi di sviluppo, ma vi sono due aspetti che tendono a confondere questo problema: le cellule di origine possono rappresentare stadi della normale successione ontogenica e della differenziazione di cellule T e B, o stadi del normale processo di trasformazione dei linfociti T e B, che si verifica in risposta agli antigeni. Questo processo provoca un incremento nel numero di cellule necessariamente effettrici, che producono citochine (linfociti T) o anticorpi (linfociti B) mediante trasformazione dei piccoli linfociti che si dividono in linfociti trasformati (immunoblasti). La morfologia delle cellule a vari stadi di questo processo di trasformazione, che si svolge nei tessuti linfoidi, somiglia molto a quella di alcune cellule linfomatose. Un esempio è riscontrabile nei l. a cellule centrofollicolari nei quali i normali stadi di trasformazione nei centri germinativi sono identici alle cellule predominanti in ciascuno dei tipi dei l. a cellule centrofollicolari. Tuttavia, un'espansione clonale che prenda origine da singole cellule progenitrici, dal punto di vista ontogenico o della trasformazione, può essere riconosciuta con metodi morfologici, citochimici e immunofenotipici. La clonalità immunofenotipica nei l. a cellule B è di solito chiara, in quanto la maggior parte delle cellule esprime una o due catene pesanti e una catena leggera (k o λ) sulla superficie o nel citoplasma. Questa restrizione delle catene pesante e leggera è un chiaro segno di «monoclonalità». Con i l. a cellule T non vi sono tali «standard ideali». I fenotipi ottenuti con anticorpi monoclonali contro antigeni di differenziazione di cellule T o recettori possono essere omogenei, ma finché non c'è uno standard confrontabile alla monoclonalità delle catene leggere, e poiché i fenotipi omogenei (cioè cellule T, T11+, T3+T+, *helper*) possono riflettere sia una neoplasia che un'iperplasia reattiva, i fenotipi a cellule T mancano della precisione offerta dalla clonalità immunoglobulinica. Sebbene una espansione monoclonale di cellule B possa verificarsi nell'iperplasia reattiva benigna, ciò si verifica raramente e può in realtà costituire la fase precoce di una neoplasia in via di formazione.

**Citofluorimetria**

I citofluorimetri (v. CITOMETRIA A FLUSSO*) esaminano ogni cellula che attraversi un raggio laser o il raggio di una lampada al mercurio. Numerosi parametri vengono misurati simultaneamente (grandezza della cellula, irregolarità del nucleo, granularità citoplasmatica, emissione di fluorocromi). Usando più anticorpi monoclonali, ciascuno con un fluorocromo che emette un differente colore, le singole cellule possono emettere diversi colori. I rivelatori dei diversi colori e i rivelatori della luce refratta caratterizzano ciascuna cellula in diversi modi (analisi multiparametrica).

Ad es., una sospensione cellulare preparata da un linfonodo contenente un l. a cellule B mostra di frequente due distinte popolazioni, differenti per grandezza delle cellule, forma nucleare e/o granulosità citoplasmatica. La popolazione a cellule più grandi di solito contiene la maggior parte delle cellule linfomatose, mentre la popolazione costituita da cellule più piccole è composta prevalentemente da piccoli linfociti benigni. Queste due popolazioni possono essere esaminate separatamente mediante separazione elettronica in base alle caratteristiche della luce refratta dalle diverse cellule. Presumendo che la maggior parte delle cellule linfomatose è presente nella popolazione separata di cellule più grandi e che tutte le cellule sono state esposte ad un pannello di anticorpi che distingue i linfociti T e B, può essere determinato un fenotipo a due o tre colori. Infatti ciascuno dei due o tre anticorpi monoclonali è collegato a un fluorocromo che emette un differente colore. La popolazione di cellule più grandi può essere un clone omogeneo di cellule B, mentre i piccoli linfociti possono essere una miscela di cellule T e B normali o reattive e di piccole



Digitized by Google

cellule linfomatose. A causa di questa eterogeneità la popolazione di cellule piccole può o non può mostrare clonalità. Nel caso di l. a cellule B, la clonalità può essere espressa come una preponderanza di cellule che esprimono solo una catena leggera e una o due catene pesanti, come ad es. IgMk. Nei l. a cellule T un'espressione omogenea di taluni antigeni di differenziazione dei linfociti T può suggerire clonalità, ma sfortunatamente non vi è alcun antigene di cellule T o combinazione di antigeni che indichi una monoclonalità neoplastica di grado analogo a quello offerto dalla restrizione delle catene leggere delle Ig.

Come estensione dell'immunofenotipizzazione ottenuta con il citofluorimetro, un antigene presente nella maggior parte delle cellule linfomatose può essere utilizzato per focalizzare in queste l'analisi del DNA. Così, clonalità e analisi del DNA nel ciclo cellulare possono essere eseguite simultaneamente, analizzando diverse centinaia di cellule per secondo. I risultati della tipizzazione possono essere disponibili entro 2-3 h dalla ricezione del campione. Sebbene gli antigeni di superficie delle cellule vitali siano quelli più comunemente esaminati, antigeni intracitoplasmatici e nucleari possono essere documentati anche nelle cellule fissate.

**Immunocitochimica (ICC)**

L'approccio dell'ICC all'immunofenotipizzazione permette la visualizzazione della morfologia delle cellule marcate, *in situ*, cosicché la struttura della neoplasia è conservata nelle sezioni istologiche. Antigeni nucleari, citoplasmatici e di superficie vengono così messi in evidenza, sebbene gli antigeni di superficie a bassa concentrazione possono non essere evidenziati. Tale metodologia è piuttosto lenta, soggettiva e semiquantitativa, mentre l'analizzatore automatico di immagine risolve alcuni di questi problemi e permette anche l'analisi del DNA. L'analisi simultanea con più colori per diversi antigeni della stessa cellula è in genere poco pratica, e un completo pannello richiede diverse sezioni istologiche, ciascuna colorata per un differente antigene.

**Analisi del DNA**

L'analisi del DNA nel ciclo cellulare, effettuata utilizzando la citofluorimetria, ha dimostrato una correlazione tra l. a basso grado di malignità (prognosi favorevole) e l. ad alto grado di malignità (prognosi sfavorevole), e cellule in fase S; infatti i l. ad alto grado di malignità presentano evidenza di un'aumentata attività proliferativa. L'aneuploidia è documentabile mediante citofluorimetria con singolo fluorocromo nel 50% o meno dei l., ma questa percentuale cresce nei l. di grado intermedio o elevato di malignità. I l. a basso grado di malignità e le leucemie sono generalmente diploidi o quasi diploidi, mentre i l. follicolari sono per lo più diploidi o tetraploidi. I l. a piccoli linfociti non clivati (Burkitt e non-Burkitt) e i l. a cellule centrofollicolari tendono a essere diploidi o iperploidi, mentre i l. diffusi a grandi cellule (sarcoma immunoblastico, l. a grandi cellule centrofollicolari, non clivate) sono spesso iperdiploidi. I l. a cellule T sono aneuploidi meno frequentemente dei l. a cellule B.

La proliferazione cellulare, espressa come percentuale di cellule in fase S del ciclo cellulare, mostra una migliore correlazione tra il grado istologico e il comportamento clinico rispetto a quanto si verifichi con la ploidia. I tumori a basso grado di malignità mostrano meno cellule in fase S che i tumori a grado intermedio o elevato di malignità. Esiste una certa correlazione tra la ploidia e la fase S; ad es. la diploidia con bassi livelli delle cellule in fase S, la iperdiploidia con elevati valori di cellule in fase S, ma tale correlazione non è sempre così marcata.

Esaminando soltanto le cellule neoplastiche di un l., che contiene anche linfociti T e B normali e reattivi, istiociti, granulociti e cellule dello stroma, la sensibilità della ricerca di popolazioni aneuploidi aumenta. Ciò si realizza analizzando soltanto quelle cellule che vengono identificate per mezzo di un antigene specifico o parzialmente specifico per le cellule del l. Per es., analizzando solo quelle cellule che contengono la catena leggera specifica delle cellule B del l., la percentuale di l. che mostra aneuploidia aumenta fino a circa l'80%.

Un altro uso della citofluorimetria riguarda le valutazioni degli antigeni nucleari associati alla proliferazione e l'analisi del DNA. Tali combinazioni aiutano a distinguere i l. a basso e ad alto grado di malignità sia nei tessuti freschi che nei tessuti inclusi in paraffina.

*Problemi risolti dall'immunofenotipizzazione e dall'analisi del DNA nel ciclo cellulare*

Alcune questioni clinicamente rilevanti, non sempre risolte dalle sezioni istologiche, possono essere risolte con l'uso congiunto della citofluorimetria (e dell'immunocitochimica) e dell'analisi del DNA del ciclo cellulare. Tale approccio permette di distinguere un processo reattivo da un l., un l. da un tumore metastatico, i l. a cellule T dai l. a cellule B, i l. a cellule T periferiche da quelli a cellule T centrali, la malattia di Hodgkin dai l., i l. a basso grado di malignità da quelli ad alto grado, i l. aggressivi dai l. a lenta evoluzione a piccoli linfociti, i processi preneoplastici dai processi reattivi.

*Aspetti immunofenotipici nei linfomi*

Alcuni tipi di l. mostrano immunofenotipi abbastanza definiti, che offrono un utile aiuto alla diagnosi morfologica. Non sempre essi sono tuttavia così chiari, poiché vi sono variazioni entro un singolo tipo cellulare, come abbiamo già visto prima. In ogni caso sono emersi reperti utili per la diagnosi.

*Linfomi a cellule B*

L. a piccoli linfociti (B-CLL, leucemia linfoide cronica a cellule B): i linfociti neoplastici contengono solo modeste quantità di Ig di superficie (SIg; IgM, IgM/IgD) con la catena leggera limitata alla k o alla λ (monoclonale). Gli antigeni CD5, CD19(B4), CD20 (B1), CD24 (BA-1), HLA-DR e T9 (recettore della transferrina) spesso sono anch'essi espressi, mentre alcune cellule possono esprimere il CD10 (CALLA). CD5 (T1) è normalmente un antigene della cellula T, ma viene anche espresso spesso dai linfociti dei l. a piccoli linfociti e dai linfociti della B-CLL, sebbene le cellule extranodali possano non esprimerlo. I l. plasmocitoidi linfocitici hanno la tendenza a esprimere meno SIg e una maggiore quantità di Ig citoplasmatica che non i l. a piccoli linfociti, ma presentano spesso reperti delle catene leggere da SIg e CIg monoclonali. Infine i l. plasmocitoidi esprimono anche CD25 (TAC, IL2R), T9, PCA-1 e PC-1.

Il fenotipo del l. «della zona mantellare» è generalmente abbastanza simile a quello del l. a piccoli linfociti.

*Linfoma a cellule centrofollicolari (FCC)*

*Linfomi a cellule piccole e grandi indentate.* – Queste cellule dei FCC mostrano quasi sempre (> 90%) la restrizione della catena leggera e SIgG con o senza IgM. Le cellule più grandi tendono ad esprimere una minore quantità di SIg. La maggior parte di queste cellule sono HLA-DR+ ed esprimono uno o più antigeni di differenziazione delle cellule B. Quasi tutte esprimono sia il CD19 sia il CD20, o l'uno o l'altro. I l. follicolari (nodulari) tendono a





Digitized by Google

esprimere CD10 (CALLA), mentre ciò non si verifica per i l. diffusi, riflettendo probabilmente la presenza di CD5 nelle normali cellule centrofollicolari. CD5 (T1) non è generalmente presente, ma può essere utile nella diagnosi differenziale dei l. a piccoli linfociti rispetto ai l. FCC a cellule piccole indentate.

*Linfomi FCC a piccole cellule non indentate.* – Le cellule generalmente esprimono grandi quantità di IgM (con o senza IgD) e presentano restrizione della catena leggera. Gli antigeni espressi dalle cellule B comprendono HLA-DR, CD10, CD19, CD20, CD24. L'antigene da proliferazione nucleare (Ki-67) e un antigene da attivazione (CD38, T10) possono anche essere presenti; tuttavia questi non sono reperti specifici di una serie cellulare. I reperti fenotipici convalidano il concetto originariamente prospettato da Lukes e Collins, i quali affermarono che il l. di Burkitt (SNC, FCC) deriva da cellule centrofollicolari. Gli immunofenotipi dei l. di Burkitt e dei l. non-Burkitt SNC sono abbastanza simili e probabilmente indistinguibili.

*Linfomi FCC a cellule non indentate e immunoblastici.* – Circa la metà di queste grandi cellule dei l. FCC mostra SIg con un aspetto monoclonale delle catene leggere. Queste, e quelle che sono SIg negative, possono esprimere CD19 o CD20 o entrambi e sono di solito HLA-DR+. Altri antigeni di differenziazione delle cellule B sono espressi meno frequentemente (CD21, CD22, PCA-1, PC-1), mentre CD10 è espresso soltanto in una piccola percentuale di l.

### *Linfomi a cellule T*

*Sarcoma immunoblastico a cellule T.* – In tali l. le cellule hanno la tendenza a presentarsi come cellule T mature (post-timiche). Esse possono esprimere CD2 (T11, Leu 5), CD3 (T3, Leu 4), CD5 (T1), CD7 (Leu 9), CD4 (T4, Leu 3) e CD8 (T8, Leu 2). CD4 o CD8 si presentano nella maggior parte dei casi da soli (di solito il CD4) mentre raramente sono presenti ambedue. È frequente il mancato riscontro di uno o più degli antigeni pan-T, soprattutto CD5 e CD7. CD1 (T6) non è in genere espresso, e la sua assenza può essere utilizzata per distinguere tali l. dai l. a cellule T convolute (l. linfoblastici). Gli antigeni da attivazione sono spesso presenti (HLA-DR, T9, CD38, CD25).

*Linfomi a cellule T convolute (linfomi linfoblastici).* – Le cellule di questi l. presentano fenotipi simili a quelli della leucemia linfoide acuta a cellule T, indicando le loro strette relazioni. Gli antigeni da differenziazione delle cellule T (CD1, CD2, CD3, CD5, CD7, CD4 e CD8) sono presenti in misura varia. CD7, un antigene da iniziale differenziazione, che precede il riarrangiamento dei geni della catena beta dei T, è espresso in queste cellule, come avviene per il CD1 (T6), un antigene che si ritrova normalmente sui comuni timociti. Gli antigeni pan-T sono variamente presenti, come anche CD4 e CD8. Il CD10 (CALLA) può anche essere presente.

Le cellule linfomatose sono quasi sempre TdT+ e possono essere CD3 positive nel citoplasma, ma sulla superficie della membrana il CD3 risulta negativo. Tale differenza può essere utile nel distinguere tale entità dalle altre neoplasie a cellule T e dalla leucemia linfoide acuta a cellule pre-B, che di solito è TdT+.

*Linfomi cutanei a cellule T: sindrome di Sézary e micosi fungoide.* – Le cellule presenti in questi l./leucemie esprimono un fenotipo di cellula T matura (CD1−, CD2+, CD3+, CD4+). Esse sono di solito CD8 negative sebbene in rari casi possono essere contemporaneamente presenti CD4 e CD8. In altri casi non sono presenti né il CD4 né il CD8, o soltanto il CD8. Le cellule non posseggono SIg e generalmente sono HLA-DR negative. Comunque, poiché sono attivate o in stato di proliferazione, possono esprimere antigeni da attivazione, come il T9, il CD38 e HLA-DR. CD7 generalmente non è espresso, tranne che nelle lesioni cutanee.

*Linfoma/leucemia a cellule T mature.* – Questo processo neoplastico è fortemente correlato con l'HTLV-1. Le cellule presentano un fenotipo analogo a quello delle cellule T, essendo simili a quelle dei l. cutanei a cellule T, con l'eccezione che esprimono CD25. Esse di norma sono positive per CD2, 3, 4 e 25, negative per CD1, 8 e 38.

### Citogenetica

Anormalità cariotipiche possono essere dimostrate con i metodi più moderni in quasi tutte le neoplasie maligne. Queste sono modificazioni genetiche somatiche, che non sono presenti nella maggior parte degli individui. Di solito tutte le cellule di un tumore presentano anomalie cromosomiche identiche o correlate. Questa osservazione ha fortemente convalidato la teoria per cui numerose neoplasie sorgono da una singola cellula alterata, con modificazioni genetiche somatiche rappresentate da anormalità cromosomiche, che favoriscono la crescita selettiva per la progenie della originale cellula «mutante». Comunque, anche se le neoplasie rappresentano lo sviluppo clonale da una singola cellula di origine, spesso queste non sono omogenee, poiché hanno delle sottopopolazioni che evolvono dal clone originale, per l'instabilità genetica delle cellule neoplastiche. La progressione del tumore si può collegare a questa instabilità, che è associata a modificazioni cromosomiche addizionali. Specifiche modificazioni cromosomiche possono essere associate ai vari tipi di tumori, in forma di particolari riarrangiamenti, acquisizioni o perdite di segmenti cromosomici. Ciò può aiutare a localizzare i punti del genoma dove sono dislocati geni specifici, importanti per la cancerogenesi.

Alcuni progressi in questo campo hanno interessato anche i l. e le leucemie linfoidi. Le modificazioni cromosomiche possono essere utili come sostegno diagnostico e strumento prognostico, aiutando a distinguere le neoplasie dalle iperplasie reattive, specialmente se queste ultime appaiono di natura clonale. Alterazioni specifiche, come la trisomia 12 o una traslocazione che comprenda il cromosoma 14, possono aiutare a identificare talune particolari neoplasie e possono essere utili nel monitoraggio della remissione, delle ricadute o della progressione clinica. Riarrangiamenti cromosomici comuni che comportano la traslocazione alle porzioni terminali del braccio lungo del cromosoma 14 (banda 14q32) dai cromosomi 8, 11 o 18, sono stati osservati nel l. di Burkitt e in altri l. non-Hodgkin, come anche nel mieloma multiplo e nella leucemia linfoide cronica a cellule B.

Le informazioni citogenetiche hanno valore clinico, come la conferma di uno stato neoplastico o preneoplastico, anche se l'assenza di una modificazione cariotipica non esclude la neoplasia. Alcune alterazioni cromosomiche non *random* sono così caratteristiche che possono servire a stabilire una diagnosi specifica: per es. la traslocazione del l. di Burkitt e la trisomia 12 della leucemia linfoide cronica a cellule B. Si può anche dedurre un significato prognostico da queste alterazioni, come nella leucemia linfoide acuta, in cui i sottogruppi Ph-positivi e t;11 presentano una prognosi particolarmente sfavorevole, mentre i casi che presentano un cariotipo normale o una conta cromosomica di 50-55 hanno una prognosi migliore della generalità dei pazienti. In generale l'importanza prognostica è minore nei l. a cellule B sebbene alcune specifiche, individuali modificazioni cromosomiche possono essere collegate con la classificazione istologica e l'immunofenotipo.

Gli studi sul l. di Burkitt hanno condotto ad osservazioni



Digitized by Google

che possono spiegare il ruolo degli oncogeni nelle neoplasie e nella carcinogenesi. Da una combinazione di tecniche citogenetiche e di genetica molecolare, è stato dimostrato che le traslocazioni che interessano i cromosomi 8 e 14, 8 e 22 o 2 e 8 risultano in una trascrizione del gene attivo e riarrangiato delle immunoglobuline portato a contatto con il cosiddetto proto-oncogene *c-myc*, corrispettivo umano dell'oncogene *v-myc* dei retrovirus. Nella frequente traslocazione t(8;14), il gene *c-myc* è spostato dalla sua normale posizione sul cromosoma 8 sul *locus* della catena pesante delle immunoglobuline, situato sul braccio lungo del cromosoma 14, alla banda q32. Nelle altre due traslocazioni, 8 a 22 e 2 a 8, il *locus* di una catena leggera delle immunoglobuline è trasportato vicino al *c-myc*. Questi riarrangiamenti spostano il proto-oncogène *c-myc* sotto l'influenza di stimolatori nei o vicino a *loci* delle immunoglobuline, risultandone una deregolazione dell'espressione del gene *myc* e un presunto ruolo critico nella crescita alterata delle cellule B neoplastiche. Gli studi eseguiti in altri pazienti hanno suggerito che due nuovi oncogeni sui cromosomi 11 e 18 (bcl-1 e bcl-2) possono essere attivati in modo simile a ciò che avviene con il gene *c-myc* nel l. di Burkitt.

Studi meno estesi sono stati eseguiti sulle neoplasie a cellule T, in parte perché queste hanno un'incidenza minore dei l. e delle leucemie a cellule B. Comunque, i reperti cariotipici che mostrano una natura clonale per alcune proliferazioni a cellule T, hanno fornito indicazioni prognostiche e talora sono utili nello stabilire una diagnosi. Modificazioni cariotipiche non *random* sembrano essere meno frequenti nelle proliferazioni a cellule T, ma nuovi dati stanno emergendo. Alcune alterazioni sono identiche a quelle osservate nelle neoplasie a cellule B, comprendendo traslocazioni alla porzione terminale del braccio lungo del cromosoma 14 (banda q32) e delezioni nel braccio lungo del cromosoma 6. In taluni casi di leucemia a cellule T con una traslocazione t(18;14) (q24;q11), una porzione del gene del recettore della cellula T viene trasportata a contatto con il gene c-*myc*, risultandone una deregolazione simile a quella osservata nel l. di Burkitt e interessante i geni delle immunoglobuline.

**Genetica molecolare**

Molte limitazioni incontrate nel determinare la monoclonalità delle neoplasie linfoidi sono state superate dalla conoscenza dei riarrangiamenti del DNA che assemblano i geni dei recettori antigene-specifici nelle cellule B o T. I geni per le immunoglobuline e per il recettore delle cellule T sono composti di numerosi, separati subsegmenti di gene nel loro stato di linea germinale o embrionario. Durante lo sviluppo del sistema linfoide questo processo di ricombinazione del DNA assembla i componenti dei geni delle immunoglobuline nelle cellule B, e i geni del recettore delle cellule T in queste. Molto di ciò che si conosce su questi riarrangiamenti è stato ricavato da studi sulle neoplasie linfoidi. A loro volta, tali studi hanno condotto a un'accresciuta conoscenza su clonalità, stadio di sviluppo e patogenesi di leucemie e l.

Poiché vi è un ordine di sviluppo nei riarrangiamenti dei geni delle immunoglobuline e dei recettori delle cellule T durante l'iniziale maturazione delle cellule B e T, ciò permette di avere un nuovo mezzo per classificare le neoplasie. Come abbiamo visto precedentemente, la dimostrazione della clonalità di una proliferazione cellulare, in modo da distinguere i processi benigni da quelli maligni, è stata largamente limitata alla dimostrazione della presenza esclusiva di una catena leggera (k o λ) nelle neoplasie a cellule B. Non è stato possibile dimostrare un analogo segno di clonalità per le neoplasie a cellule T. I linfociti T o B, normali o reattivi, sono policlonali e posseggono numerosi riarrangiamenti dei geni delle immunoglobuline o dei geni dei recettori delle cellule T, nessuno dei quali è al di sopra della soglia di rilevazione. Una proliferazione monoclonale neoplastica, comunque, rappresenta la progenie di una sola cellula cosicché tutte le cellule di uno stesso clone posseggono lo stesso riarrangiamento. Pertanto è possibile dimostrare la clonalità sia per i linfociti B che per i linfociti T in modo estremamente sensibile. Anche se l'immunofenotipizzazione è abbastanza sensibile e può rilevare la presenza di pochi linfociti neoplastici in un'ampia popolazione cellulare, gli studi sui riarrangiamenti dei geni delle immunoglobuline e dei recettori delle cellule T sono ancora più sensibili, e hanno anche il vantaggio di determinare la clonalità delle cellule T.

La sequenza dello sviluppo dei riarrangiamenti dei geni delle immunoglobuline e dei recettori delle cellule T, è stata derivata da studi sul timo fetale e sulla leucemia linfoide acuta a cellule B e a cellule T. È stato dimostrato che le cosiddette leucemie linfoidi acute non-B, non-T rappresentano stadi distinti dell'iniziale differenziazione della cellula B, anche quando le cellule non esprimono ancora le immunoglobuline di superficie. Tali studi hanno messo in luce una sequenza di riarrangiamenti delle catene pesanti prima delle catene leggere, e delle catene leggere k prima delle λ. Studi effettuati sulla leucemia linfoide acuta a cellule T hanno dimostrato che i geni per i recettori beta delle cellule T sono riarrangiati precocemente nell'ontogenesi intratimica prima dei geni per i recettori alfa delle cellule T. La maggior parte delle leucemie acute a cellule T esprime un completo complesso del recettore T3-Ti. Sebbene questa successione di eventi venga di norma conservata, vi sono casi in cui vengono riarrangiati i geni per i recettori gamma e non per il recettore beta, e viceversa.

Anche se tali riarrangiamenti dei geni delle immunoglobuline e dei recettori delle cellule T sono utilizzati per determinare la linea cellulare di appartenenza di una particolare neoplasia, non vi è sempre una completa aderenza alle linee cellulari poiché vi è un normale *crossing-over* dei riarrangiamenti sia dei geni delle immunoglobuline sia dei geni dei recettori delle cellule T nella linea opposta. Ciò può rappresentare i residui di un iniziale processo «decisionale» che si verifica prima di un'assegnazione assoluta a una linea cellulare. Comunque, attraverso l'associazione dei dati ottenuti con l'analisi dei riarrangiamenti dei geni delle immunoglobuline e dei geni per i recettori delle cellule T con i dati ottenuti con l'immunofenotipizzazione, quasi tutte le leucemie e i l. possono essere attribuiti alla corretta linea cellulare, eccetto per le neoplasie non classificabili, che derivano da cellule indifferenziate che presentano soltanto DNA da linea germinale.

**Non perfetta aderenza ad una linea cellulare e promiscuità**

Sebbene molte osservazioni tratte dagli studi sulle leucemie e i l. umani sostengano l'idea che tali neoplasie sono di origine monoclonale e rappresentano arresti della maturazione o espressione di una mancata coordinazione tra proliferazione e differenziazione, alcuni esempi riportati, di non perfetta aderenza a una linea cellulare («infedeltà alla linea») nei quali le cellule leucemiche esprimono *markers* di due differenti linee cellulari (linfociti T e B, serie linfoide e serie mieloide), complicano questo concetto di monoclonalità. Comunque, molti esempi della cosiddetta «infedeltà alla linea cellulare» possono essere spiegati da limitazioni tecniche: 1) inadeguata valutazione degli anticorpi monoclonali per quanto riguarda la specificità cellulare (pochissimi antigeni sono specifici per tipi o linee cellulari ma la mancanza di un iniziale, esteso *screening* delle cellule





Digitized by Google

normali con ciascun reagente ha portato ad apparenti gradi di specificità che non sono stati confermati da studi successivi; ad es., l'antigene CD5 è presente sulle normali cellule T, ma anche su un piccolo sottogruppo delle normali cellule B e sulla maggior parte delle cellule B della leucemia linfoide cronica; l'antigene CD4 è presente non solo sulle cellule T, ma anche sui monociti); 2) gli anticorpi monoclonali non sono monospecifici; come altri anticorpi, questi sono potenzialmente capaci di interagire con una gran varietà di determinanti antigenici, poiché la specificità è il risultato della relativa affinità dei siti di combinazione dell'anticorpo, cosicché la specificità antigenica non è mai assoluta. Inoltre essi possono legarsi alle cellule con le loro regioni Fc così come con i siti combinatori degli anticorpi; appropriati controlli riguardo a questo problema non sempre sono stati eseguiti negli studi che riportano la non perfetta aderenza a una linea cellulare; 3) per collegare un particolare tipo di cellula leucemica a una normale popolazione di cellule progenitrici, l'immunofenotipo di queste ultime deve essere conosciuto. Tale livello di conoscenza è relativamente completo per i maggiori sottogruppi conosciuti delle cellule differenziate, ma piccoli sottogruppi sono stati riconosciuti retrospettivamente dal confronto di fenotipi leucemici (per es., le normali cellule B CD5+ riconosciute grazie alle cellule B CD5+ della leucemia linfoide cronica). Le attuali informazioni sui fenotipi delle cellule staminali e delle cellule progenitrici più indifferenziate sono incomplete.

Tuttavia tali problemi tecnici non spiegano tutti gli esempi di apparente incongruenza, come i casi di riarrangiamento del gene delle immunoglobuline nelle cellule T nelle leucemie mieloidi, l'espressione o il riarrangiamento del gene per il recettore delle cellule T nelle leucemie a cellule non-T. Una spiegazione, proposta dal Greaves *et al.* (1986), è che le cellule non differenziate, multipotenziali, progenitrici, subiscono simultanei, incompleti riarrangiamenti di geni per gli eventi più precoci (catena pesante delle immunoglobuline, gene per il recettore beta delle cellule T), cosicché se cloni neoplastici prendono origine da queste cellule, esse possono presentare simili, miste espressioni e riarrangiamenti dei geni, non limitati alle immunoglobuline e ai recettori delle cellule T. Greaves *et al.* hanno definito questo fenomeno «promiscuità di linee cellulari», fase di transizione di promiscuità dell'espressione di geni da parte di cellule primordiali bi- o multipotenziali, che può persistere nelle leucemie e nei l. che derivano da tali cellule progenitrici. Quando tali cellule vengono orientate verso una particolare linea cellulare (questo orientamento può essere influenzato da fattori esterni, come fattori di crescita, fattori stromali, etc.), esse potranno esprimere antigeni, enzimi, recettori e altri *markers* in rapporto all'orientamento diretto verso una linea cellulare, cioè la fedeltà alla linea cellulare.

**Terapia**

*Terapia con anticorpi monoclonali*

In teoria il trattamento delle neoplasie con anticorpi monoclonali altamente specifici ha una grande attrazione, tuttavia i tentativi che sono stati fatti di trattare i pazienti affetti da l. o da leucemie linfoidi con questi anticorpi hanno fornito risultati diversi. Generalmente si è ottenuto un effetto iniziale relativamente debole con miglioramenti soltanto transitori nelle lesioni, ma d'altra parte vi sono stati anche minori effetti collaterali, rispetto a ciò che si sarebbe potuto attendere poiché gli anticorpi sono di origine animale, provengono cioè dai topi. Esistono problemi inerenti la terapia con anticorpi monoclonali per questi motivi: *a*) una modulazione potenziale dell'antigene della superficie cellulare può essere indotta dall'esposizione all'anticorpo; *b*) un antigene circolante distaccatosi da un tumore può legare un anticorpo e impedire che questo raggiunga le cellule tumorali; c) la produzione di anticorpi antitopi può portare alla neutralizzazione degli anticorpi; *d*) gli anticorpi monoclonali possono non avere la desiderata specificità nei confronti della cellula neoplastica. Questi inconvenienti dell'immunoterapia sono presenti anche quando gli anticorpi monoclonali sono coniugati a tossine chimiche o a radioisotopi in modo da condurre questi prodotti verso le cellule neoplastiche. Ciò nonostante, l'uso di anticorpi monoclonali coniugati a radionucleotidi per visualizzare un tumore ha ottenuto successi non costanti.

Inizialmente un approccio stimolante a tale terapia prevedeva l'uso di anticorpi monoclonali diretti contro l'idiotipo dell'immunoglobulina del tumore proprio di ciascun paziente. Tuttavia, poiché alcune cellule linfomatose di alcuni pazienti presentano più di un idiotipo e questi possono cambiare nel tempo, è divenuta evidente la necessità di utilizzare più di un anticorpo anti-idiotipo. Studi recenti e incoraggianti hanno dimostrato che gli anticorpi monoclonali preparati contro un idiotipo Ig di un paziente, possono anche riconoscere idiotipi Ig relativi a neoplasie di altri pazienti.

Un'area in cui gli anticorpi monoclonali diretti contro gli antigeni associati a leucemie/l. sono utili è quella dell'eliminazione di cellule neoplastiche nel midollo osseo da utilizzare nel trapianto autologo. L'identificazione delle cellule leucemiche o linfomatose nel midollo osseo di un paziente in remissione e la loro rimozione grazie all'uso di alcuni anticorpi monoclonali specifici (con il complemento o con anticorpi coniugati a tossine) permettono di ottenere il midollo privo di cellule neoplastiche, che può essere reintrodotto nel paziente dopo l'irradiazione di tutto il corpo. Tale approccio è stato utilizzato nella leucemia linfoide acuta, eliminando le cellule leucemiche dal midollo con associazioni di anticorpi diretti contro differenti antigeni di differenziamento o CALLA con il complemento. Anche i pazienti con l. non-Hodgkin sono stati trattati in questo modo. Naturalmente è importante che gli anticorpi utilizzati nel distruggere le cellule linfomatose o leucemiche nel midollo osseo non debbano distruggere anche le normali cellule progenitrici.

Debbono ancora essere risolti i problemi inerenti alla localizzazione degli anticorpi monoclonali esclusivamente nelle neoplasie, alla risposta dell'ospite agli antigeni del proprio tumore, alla eterogeneità antigenica, alla modulazione tumorale e molti altri. Pertanto una valutazione definitiva di tale approccio non può essere completamente fatta. È possibile che in futuro il maggior uso di tali anticorpi potrà esser legato alla diagnostica per immagini, all'eliminazione di cellule neoplastiche nel midollo osseo, e a modalità combinate di trattamenti per eliminare piccoli residui di cellule neoplastiche dopo la chemio-radioterapia.

*Trapianto di midollo*

I risultati terapeutici poco favorevoli ottenuti nelle forme più aggressive di l. maligni hanno incoraggiato l'impiego del trapianto di midollo osseo anche in queste neoplasie. Sono state così riportate diverse esperienze con il trapianto singenico, allogenico ed autologo (v. MIDOLLO OSSEO*, *trapianto*).

Il *trapianto singenico*, cioè da fratelli HLA-identici, provoca una remissione completa in un'alta percentuale di casi, è associato ad un grado accettabile di tossicità e il suo impiego è ovviamente limitato dalla disponibilità di gemelli, ma i risultati ottenuti da questi studi clinici hanno costituito la base per utilizzare le altre forme di trapianto nei l. maligni.




Digitized by Google

Il *trapianto allogenico*, cioè da familiari non HLA-identici, deve essere impiegato nei pazienti con l. refrattari alla chemioterapia, con malignità istologica intermedia od elevata. È stato dimostrato che il trapianto allogenico risulta più efficace se viene effettuato precocemente nei pazienti ad alto rischio per recidive dopo una chemioterapia convenzionale. Infine il trapianto allogenico è associato ad un'elevata incidenza di morbilità e di mortalità.

Il *trapianto autologo* risulta invece meno tossico; esso viene eseguito inoculando midollo osseo autologo, cioè dello stesso paziente, criopreservato, dopo la somministrazione di farmaci antineoplastici che hanno provocato una condizione di aplasia midollare. Questa forma di trapianto può essere effettuata anche nelle persone meno giovani. Le tecniche di preparazione del midollo osseo permettono oggi di avere un tessuto midollare privo di cellule neoplastiche eventualmente presenti.

Ormai diverse centinaia di pazienti con l. maligni sono stati sottoposti a trapianto autologo, con schemi diversi, comprendenti talora anche l'impiego di fattori di crescita midollari, come il *granulocyte-macrophage colony stimulating factor*.

Sono sicuramente necessari ulteriori studi per meglio caratterizzare le esatte indicazioni al trapianto di midollo osseo nei pazienti affetti da l. maligni, specialmente per quanto riguarda i sottotipi da trattare, il momento in cui effettuarlo, la migliore chemioterapia da associare.

**Bibliografia**

Caratteristiche immunologiche e aspetti immunofenotipici
Anderson K. C. *et al.*, *Blood*, 1984, **63**, 1424.
Borowitz M. J. *et al.*, *Am. J. Pathol.*, 1985, **121**, 514.
Brayland R. C., Benson N. A., *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 1989, **113**, 627.
Deegan M. J., *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 1989, **113**, 606.
Duque R. E. *et al.*, *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 1990, **114**, 176.
Foon K. A., Todd R. F. III, *Blood*, 1986, **68**, 1.
Friedman A. S., Nadler L. N., *Semin. Oncol.*, 1987, **14**, 193.
Greaves N. F. *et al.*, *Blood*, 1986, **67**, 1.
Horning S. J. *et al.*, *Blood*, 1986, **67**, 1578.
Janssen J. *et al.*, *Blood*, 1984, **63**, 1241.
Knowles D. N. II, *Am. J. Surg. Pathol.*, 1985, **9** (Suppl.), 85.
Lukes R. J. *et al.*, *Semin. Hematol.*, 1978, **15**, 322.
Parker J. W., *Am. J. Clin. Pathol.*, 1979, **72** (Suppl.), 679.
Parker J. W., *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 1986, **15**, 427.
Roholl P. J. M. *et al.*, *Am. J. Clin. Pathol.*, 1988, **89**, 1987.
Schuurman H. J. *et al.*, *Am. J. Pathol.*, 1988, **131**, 102.
Strauchen J. A., Dimitriu-Bona A., *Am. J. Pathol.*, 1986, **123**, 293.
Tubbs R. R. *et al.*, *Am. J. Pathol.*, 1983, **113**, 207.
Turner R. R. *et al.*, *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 1989, **113**, 907.

Analisi del DNA
Braylan R. C., Benson N. E., Nourse V. A., *Cancer Res.*, 1984, **44**, 5010.
Christensson B. *et al.*, *Cancer*, 1986, **58**, 1295.
Look A. T., *Blood*, 1982, **60**, 959.
Roos G. *et al.*, *Hematol. Oncol.*, 1985, **3**, 233.
Shackney S. E. *et al.*, *J. Clin. Invest.*, 1984, **3**, 1201.

Genetica citomolecolare
Cossman J. *et al.*, *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 1988, **112**, 117.
Korsmeyer S. J., *J. Clin. Invest.*, 1987, **79**, 1291.
Korsmeyer S. J., in De Vita V. ed., *Important Advances in Oncology*, 1987.
Kristoffersson U. *et al.*, *Cancer Genet. Cytogenet.*, 1987, **25**, 55.
Lebeau M., Rowley J., *Cancer Surveys*, 1984, **3**, 372.
Nowell P. C., Croce C. M., *Am. J. Pathol.*, 1986, **125**, 8.
Nowell P. C. *et al.*, *Cancer Genet. Cytogenet.*, 1986, **19**, 219.

Analisi del DNA e degli antigeni delle proliferazioni
Bauer K. D., Merkel D. E., Winter J. N. *et al.*, *Cancer Res.*, 1986, **46**, 3173.
Berliner N., Ault K. A., Martin P., Weinberg D. S., *Blood*, 1986, **67**, 80.
Braylan R. C., *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 1989, **113**, 627.
Weiss L. M., Strickler J. G., Medeiros L. J. *et al.*, *Hum. Pathol.*, 1987, **18**, 1155.

Aspetti immunofenotipici
Borowitz M. J., Reichert T. A., Brynes R. K. *et al.*, *Hum. Pathol.*, 1986, **17**, 567.
Deegan M. J., *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 1989, **113**, 606.
Garcia C. F., Weiss L. M., Warnke R. A., *Hum. Pathol.*, 1986, **17**, 454.
Medeiros L. J., Strickler J. G., Picker L. J. *et al.*, *Am. J. Pathol.*, 1987, **129**, 523.
Wain S. L., Braylan R. C., Borowitz M. J., *Cancer*, 1987, **60**, 2403.

Genetica molecolare
Sklar J., Weiss L. M., *Ann. Rev. Med.*, 1988, **39**, 315.
Waldmann T. A., *Adv. Immunol.*, 1987, **40**, 247.

Terapia
Tura S., Mazza P., Chiarlizoni F. *et al.*, *Scand. J. Haematol.*, 1986, **37**, 347-352.
Vose J. M., Armitage J. O., Bierman S. J., *Bone Marrow Transplantation for Hodgkin's Disease, non-Hodgkin's Lymphoma and Multiple Myeloma*, in Champlin R. ed., *Bone Marrow Transplantation*», 1990, Kluwer Ac. Publ., Boston.

JOHN W. PARKER

## CHIRURGIA DEI LINFOMI

SOMMARIO



Il ruolo del chirurgo nel trattamento dei l. si esplica su due fronti: la stadiazione e la chirurgia d'organo. La *stadiazione* consiste nella laparosplenectomia e riguarda soprattutto i l. di Hodgkin; la *chirurgia d'organo* consiste nell'exeresi delle forme tumorali, che sono più frequenti tra i l. non-Hodgkin.

### Stadiazione

La stadiazione chirurgica è un metodo standardizzato di laparosplenectomia a scopo soprattutto diagnostico e solo eccezionalmente curativo. La tecnica prevede una serie precisa di atti chirurgici. La metodica consiste innanzitutto nella *splenectomia*, con applicazione di una clip metallica all'ilo splenico, quale «spia» per la successiva opera del radioterapista. Segue la *biopsia del fegato*, eseguita in due modalità: a cuneo, sul margine inferiore del fegato, e con ago in profondità (ago del Menghini). Si esplorano poi manualmente le stazioni para-aortiche dal tronco celiaco fin lungo le arterie iliache: *si asporta un linfonodo*, con clip, ovunque sia stato segnalato dalla linfangiografia o quando si dimostri ingrossato all'esplorazione manuale. Altre clip vanno applicate in corrispondenza del tratto alto e della biforcazione aortica, annotando poi nella descrizione dell'intervento la sede di ciascuna clip su di un opportuno schema grafico. Il tempo laparotomico termina con l'esecuzione, nella donna fertile, della pessia delle ovaie dietro l'utero, con un punto transfisso (*ooforopessi*). Chiusa la parete addominale, si completa la stadiazione chirurgica con una biopsia a cuneo sulla cresta iliaca, per lo studio del midollo osseo.

Questo metodo di stadiazione fa comprendere le sue finalità, dirette all'accertamento della malattia al di sotto del diaframma, con una migliore tollerabilità alla radio-chemioterapia per la ripresa della crasi ematica, essendo stata asportata la milza. La stadiazione chirurgica è inoltre una guida alla radioterapia.

Quanto alle *indicazioni* alla laparosplenectomia, un concetto fondamentale è che la stadiazione risulta indicata soprattutto quando è ancora necessaria l'irradiazione, mentre appare inutile quando il trattamento consiste esclusivamente nella chemioterapia. Appare allora chiaro che la stadiazione chirurgica addominale può essere indicata *nel morbo di Hodgkin* nel primo e secondo stadio, mentre nel





Digitized by Google

terzo e quarto non è necessaria, essendo il trattamento riservato alla sola chemioterapia. Tuttavia, in alcune condizioni si esce da questo schema: la splenectomia può essere indicata in qualsiasi stadio se sia presente una grave splenomegalia, mentre può considerarsi controindicata sotto i 15 anni d'età (per il maggior rischio di sepsi post-splenectomia fulminante: *overhelming*) oppure quando la malattia si dimostri esclusivamente localizzata al mediastino o il suo istotipo sia a deplezione linfocitaria (Sacco *et al.*, 1981; Di Matteo, 1982; Stipa, 1985).

Nei *l. non-Hodgkin*, la laparosplenectomia è indicata solo al primo stadio, perché nelle fasi più tardive il trattamento è affidato alla sola chemioterapia, ed anzi, attualmente si assiste alla tendenza ad abbandonare del tutto lo *staging* nel non-Hodgkin. Fanno eccezione alcune particolari indicazioni: ad es. alcuni AA. asportano la milza (e compiono lo *staging*) per consentire una chemioterapia molto «aggressiva» (Mitchell *et al.*, 1985); altri AA. eseguono la laparosplenectomia dopo chemioterapia come «ristadiazione» per una successiva radioterapia (Ferme *et al.*, 1984; Mazza *et al.*, 1988).

Quanto ai risultati, la laparo-stadiazione si è mostrata utile anche ai fini della sopravvivenza per la guida che essa offre alla strategia terapeutica dei l. di Hodgkin, come ad es. emerge dalla più vasta casistica mondiale appartenente alla Scuola di Stanford. Infatti, la stadiazione per Hodgkin è stata ideata nel '68 presso questo Centro medico, e nel 1985 sono stati riportati i risultati di 825 laparo-stadiazioni (Taylor *et al.*, 1985): rispetto alla stadiazione clinica (compresa la linfangiografia) lo *staging* chirurgico ha portato alla correzione dello stadio «clinico» nel 42% dei casi. Nel 39% la milza è risultata interessata; le complicanze post-operatorie sono comparse nel 9,6%, con prevalenza delle infezioni della ferita o dell'apparato respiratorio.

**Chirurgia d'organo**

La chirurgia ha un ruolo fondamentale quando il l. extranodale assume un atteggiamento di tumore d'organo («sindrome tumorale»). Infatti, in tutte le casistiche di chirurgia oncologica, specialmente gastrointestinale, i l. figurano sempre come variante minoritaria accanto al carcinoma (in genere, nel 10% dei casi; Basile, 1980). L'organo più colpito è lo *stomaco*, in cui la forma di gran lunga più rappresentata è il *l. non-Hodgkin a cellule B*. I criteri d'indicazione chirurgica sono influenzati dal fatto che, rispetto al carcinoma, il l. anche apparentemente più voluminoso ed avanzato lascia una maggior sopravvivenza a distanza dopo una chirurgia «aggressiva». Lo dimostrano le maggiori casistiche, tra le quali quella della Mayo Clinic (84 gastrectomizzati per l.: Rosen *et al.*, 1987); in quest'ultima, consistente in 44 operati ad intento radicale e 40 per palliazione, la sopravvivenza a 5 anni è risultata del 75% fra i primi e ben del 32% fra gli operati con indicazione «palliativa». La radicalità si è dimostrata dipendente da dimensioni, penetrazione e diffusione del tumore, ma non dall'istotipo. La palliazione ha dato sorprendentemente buoni risultati, anche a lungo termine, proprio per le caratteristiche meno aggressive del l. rispetto al carcinoma. La mortalità operatoria, nella stessa casistica, è stata del 5% e l'irradiazione post-exeretica si è dimostrata ingiustificata, perché non ha influito sulla sopravvivenza. In pratica, il l. nei primi stadi (I e II) consente una sopravvivenza analoga a quella dell'*early cancer* (90-95% degli operati a 5 anni).

In presenza di una localizzazione all'antro gastrico senza ampia diffusione linfatica, se sia indicata una gastrectomia totale o una resezione, l'orientamento delle varie scuole chirurgiche segue gli stessi criteri adottati per il carcinoma gastrico. Tuttavia, quanto ad eseguire l'exeresi, si può considerare valido il concetto di una maggiore ampiezza di indicazioni anche di fronte agli stadi più avanzati (III e IV), a scopo oncoriduttivo e sintomatico (Spisini *et al.*, 1986; De Poda *et al.*, 1988; Domergue *et al.*, 1988). In taluni casi, infine, l'intervento gastrico s'impone d'urgenza, per perforazione da cortisonici (Storti *et al.*, 1988).

Un'altra più rara indicazione «extranodale» alla chirurgia dei l. non-Hodgkin è quella che riguarda il tenue, soprattutto l'ileo. Si tratta certamente di un'eccezione; tuttavia, in questa sede il l. è quasi l'unico tumore rappresentato. In genere il quadro clinico si rivela attraverso una complicanza, un'occlusione o la comparsa di una massa dolente e palpabile accompagnata da dimagramento. Si esegue la resezione dell'ansa interessata, con asportazione a cuneo del mesentere corrispondente. Le forme «nodali» hanno una prognosi migliore di quelle «diffuse» e la milza è incostantemente coinvolta dalla malattia (Lewin *et al.*, 1978; Tempesti *et al.*, 1987).

Nell'ambito dei l. sono state osservate anche localizzazioni più genericamente «addominali», in cui la forma non-Hodgkin si presenta come masse retroperitoneali e mesenteriche, oltre che gastrointestinali e degli organi ipocondriaci. La chirurgia ha un ruolo strettamente «integrato» con la chemioterapia, mediante l'asportazione di tutte le masse possibili, l'accurata esplorazione dei linfonodi periaortici e mesenterici, la misurazione della milza (con asportazione se eccede) e la biopsia del fegato, tutte misure utili alla successiva radioterapia e, costantemente, alla chemioterapia adiuvante. Anche in questo caso la prognosi è sorprendentemente migliore di quanto ci si aspetti dal quadro esplorativo (Mentzer *et al.*, 1988).

Sono stati osservati anche l. non-Hodgkin primitivi del fegato: si tratta di qualche decina di casi riferiti in letteratura, in cui la resezione epatica associata alla chemioterapia ha dimostrato una prognosi migliore rispetto all'epatocarcinoma (Spagliardi *et al.*, 1986; Miyamoto *et al.*, 1986; Redondo *et al.*, 1987).

La chirurgia interviene anche in casi selezionati a livello toracico, per l. Hodgkin e non-Hodgkin, con prelievi multipli linfonodali per immunotipizzazione e, in qualche caso, con exeresi di localizzazioni primitive polmonari (Yellin *et al.*, 1987).

Altre volte, specie in caso di Hodgkin, può essere richiesta una laminectomia vertebrale a scopo decompressivo, una pericardiectomia per danno attinico, o exeresi linfonodali a varia sede.

La chirurgia può infine intervenire in una rara forma non-Hodgkin, cioè nel l. linfoblastico «tipo Burkitt», caratterizzato da un atteggiamento «tumorale» spiccato, con tendenza a formare masse ingombranti (*bulky*). Nella variante sporadica «occidentale» si ha l'interessamento diffuso dell'addome (apparato gastrointestinale, linfonodi mesenterici e retroperitoneali, masse addominopelviche): in questi casi la chirurgia è deputata a risolvere le complicanze della malattia, quali un'occlusione, un'invaginazione, l'inglobamento degli ureteri o la compressione della cava. Nella variante «africana», la malattia interessa in particolare la mascella, la mandibola e l'orbita e la chirurgia è diretta all'exeresi di queste localizzazioni scheletriche cranio-facciali.

**Bibliografia**

Basile A., *Arch. e Atti 82° Congresso Soc. Ital. Chirurgia, Roma, 1980*, vol. I (Relaz.).
Bolognese A. *et al.*, *Medicina-Riv. E.M.I.*, 1988, **8** (3), 269.
De Poda D. *et al.*, *Min. Chir.*, 1988, **43**, 265.
Di Matteo G., *Arch. e Atti 84° Congresso Soc. Ital. Chirurgia, Roma, 1982*, vol. I (Relaz.).
Domergue J. *et al.*, *Chir. (Paris)*, 1988, **125**, 17.
Ferme C. *et al.*, *Cancer*, 1984, **54**, 2324.



Digitized by Google

Lewin K. *et al.*, *Cancer*, 1978, **42**, 693.
Mazza P. *et al.*, *Eur. J. Haemat.*, 1988, **41**, 6.
Mentzer S. J. *et al.*, *Surgery*, 1988, **103**, 609.
Mitchell A. *et al.*, *World J. Surg.*, 1985, **9**, 444.
Miyamoto Y. *et al.*, *Jap. J. Surg.*, 1986, **16**, 292.
Redondo C. *et al.*, *Cancer*, 1987, **60**, 736.
Rosen C. B. *et al.*, *Ann. Surg.*, 1987, **205**, 634.
Sacco R. *et al.*, *It. J. Surg. Sci.*, 1981, **11**, 197.
Spagliardi E. *et al.*, *Min. Chir.*, 1986, **41**, 1525.
Spisini R. *et al.*, *Min. Chir.*, 1986, **41**, 1635.
Stipa V. *Arch. e Atti 87° Congresso Soc. Ital. Chirurgia, Torino*, 1985, vol. I (Relaz.).
Storti S. *et al.*, *It. J. Surg. Sci.*, 1988, **18**, 361.
Taylor M. A. *et al.*, *World J. Surg.*, 1985, **9**, 449.
Tempesti M. *et al.*, *Min. Chir.*, 1987, **42**, 1123.
Yellin A. *et al.*, *Ann. Thorac. Surg.*, 1987, **44**, 363.

FILIPPO ASOLE

## LINGUAGGIO [v. vol. VIII, col. 2026]

### DISLESSIE E DISTURBI DI LETTURA

SOMMARIO



#### Incidenza dei disturbi di apprendimento

Nell'ambito delle difficoltà scolastiche e dei disturbi dell'apprendimento, le difficoltà di lettura-scrittura sono la causa più frequente di segnalazione; questo indice è così evidente che spesso, anche nella letteratura specialistica, i termini *dislessia* (in senso stretto: incapacità di riconoscere e/o comprendere appieno il significato delle parole scritte) e *disabilità di apprendimento* sono ritenuti quasi sinonimi.

Nei primi due anni di scuola circa l'8-10% dei bambini incontra difficoltà sensibili nell'imparare a leggere e scrivere nei tempi e nei modi richiesti; spesso già dalle segnalazioni delle insegnanti risulta chiaro che non si tratta di un deficit intellettivo ma di un problema di apprendimento.

Nel corso degli anni successivi, considerando la fascia dell'obbligo scolastico, il problema si complica: *a*) circa il 2% dei bambini continua a presentare delle difficoltà selettive per l'apprendimento della lettura e scrittura; per alcuni, queste difficoltà sono tali da impedire l'uso della lettura e scrittura anche per gli usi più elementari, mentre per altri esiste un apprendimento relativo, che tuttavia non consente una reale utilizzazione del linguaggio scritto come strumento di conoscenza e di comunicazione; *b*) per oltre il 15% della popolazione scolastica le difficoltà di lettura e di scrittura sono una spia dell'incompatibilità culturale, socio-linguistica, fra scuola e bambino. Questi bambini imparano a leggere e scrivere senza eccessivi problemi ma, mentre la scolarizzazione continua, risulta sempre più evidente che la lettura e la scrittura sono state apprese come tecniche e che non sono state integrate nella realtà cognitiva-sociale del bambino; in particolare risulta che gli *errori di lettura e di scrittura* sono strettamente ma inversamente proporzionali alla padronanza acquisita dagli stessi bambini nel l. orale (tab. I).

La discrepanza che esiste fra un piccolo gruppo di bambini che ha delle vere difficoltà specifiche nell'apprendimento della lettura e della scrittura, ed un più ampio gruppo di bambini che attraverso la lettura e la scrittura rivelano la loro emarginazione scolastica, è fonte, come vedremo, di molte confusioni.

A parte verranno considerate le difficoltà di lettura e scrittura dei bambini con paralisi cerebrali infantili [p.c.i.] e dei bambini con difficoltà intellettive (ritardo mentale [r. m.]).

#### Note etiopatogenetiche

Esistono diversi modelli patogenetici dei disturbi di apprendimento ed in particolare della dislessia.

I fattori etiologici su cui esiste un consenso unanime, nella letteratura, sono:

1) familiarità e collegamento con il sesso; nei bambini con dislessia esiste una netta familiarità per i disturbi di l. e per i ritardi di lettura; esiste un rapporto maschio-femmina, di almeno 4:1;

2) minima disfunzione neurologica (MDN) e disturbi di lateralizzazione; i bambini con MDN hanno 3 volte più probabilità di presentare dislessia; lo stesso vale per i bambini con pseudomancinismo; meno evidente è il nesso con il mancinismo vero e familiare.

Le ipotesi patogenetiche più accreditate sono:

1) i bambini con dislessia presentano un disturbo di elaborazione secondaria del l. orale (deficit di metacodificazione), a questo disturbo base possono aggiungersi, in 15 casi su 100, difficoltà visuo-percettive e/o visuo-motorie;

2) i bambini con dislessia hanno difficoltà a gerarchizzare rispetto all'acquisizione della lettura le funzioni linguistiche dell'emisfero sinistro con le funzioni spaziali dell'emisfero destro;

TAB. I. FREQUENZA E CAUSE PRINCIPALI DELLE DIFFICOLTÀ DI LETTURA-SCRITTURA DURANTE L'APPRENDIMENTO

| Difficoltà | Frequenza | Causa principale |
|---|---|---|
| 1) ritardo di lettura | 8-10% dei bambini fra i 6 e gli 8 anni | maturativa |
| 2) dislessia | 0,5-1% dei bambini fra i 6 e i 10 anni | problema specifico/MBD* |
| 3) difficoltà da svantaggio socio-linguistico di linguaggio, apprendimento, lettura | 15-20% dei bambini fra i 6 e i 14 anni | sociale |
| 4) difficoltà di lettura e scrittura in bambini con problemi intellettivi | grado lieve: 1% della popolazione scolastica<br>grado medio: 0,4% della popolazione scolastica | integrazione cognitiva<br>pre-requisiti cognitivi-linguistici della lettura-scrittura |
| 5) difficoltà di lettura in bambini con p.c.i. | 0,30% della popolazione scolastica | pre-requisiti neuropsicologici della lettura-scrittura |

* MBD = *Minimal Brain Dysfunction*



Digitized by Google

3) i bambini con dislessia hanno difficoltà ad integrare, nel corso dello sviluppo, le informazioni fonologiche (assunte discretamente con l'accesso fonologico) con le informazioni lessicali (assunte globalmente con l'accesso visivo).

**Inquadramento delle difficoltà di lettura-scrittura**

Ci sembra utile proporre quattro quesiti essenziali con cui affrontare ed esaminare le segnalazioni dei disturbi di lettura-scrittura.

1) La difficoltà di lettura-scrittura è selettiva? vale a dire: esiste già nella percezione dell'insegnante l'osservazione che il bambino incontra un problema solo nel leggere e scrivere mentre è adeguato per altre prestazioni cognitive-sociali?

2) La difficoltà di lettura-scrittura è specifica? vale a dire: il disturbo di lettura-scrittura è prevedibile in base all'organizzazione cognitiva *globale* del bambino?

3) Lettura e scrittura sono prestazioni *utili* nella realtà psicologica del bambino? vale a dire: l'accettazione reciproca fra scuola e bambino è un dato di fatto oppure esiste un diaframma fra il mondo culturale e le esperienze sociolinguistiche del bambino e quelle della scuola? il bambino sta imparando a leggere e scrivere o sta ancora imparando la lingua normale come fosse una lingua straniera?

4) Qual è l'atteggiamento emotivo con cui il bambino affronta l'incontro con il mondo della scuola (il rapporto con l'insegnante, il rapporto con i coetanei, il rapporto con l'insegnamento)? qual è l'atteggiamento emotivo del bambino verso l'insuccesso scolastico e verso le sue difficoltà di apprendimento?

La trattazione che proponiamo riassume sia la situazione epidemiologica sia i quesiti di base appena delineati.

È importante tener presente che i problemi possono sovrapporsi; in particolare: *a*) la componente socio-linguistica è un fattore importante anche per i disturbi dislessici su base cognitiva, neurologica o maturativa; *b*) il rapporto con la scuola propone molti problemi di identificazione secondaria ai bambini; molte problematiche affettive-relazionali preesistenti si concretizzano con l'ingresso a scuola; la percezione dell'insuccesso scolastico è un fattore importante tanto per lo sviluppo della personalità del bambino, quanto per l'evoluzione della sua carriera scolastica.

**Prerequisiti della lettura e scrittura**

Fra i 5 e gli 8 anni i bambini sviluppano e integrano, con ritmi molto personalizzati, una serie di funzioni neuropsicologiche e cognitive che, raccolte in una rete di scambio pedagogico, costituiscono la base per l'apprendimento della lettura e scrittura.

*Sviluppo del linguaggio*: per imparare a leggere e scrivere, il bambino deve essere in grado di riflettere sul fatto che sa parlare e sui modi con cui si parla. Lo sviluppo di questa capacità (di pensare *sul* l.) coincide di solito con un certo grado di sviluppo del l. orale: il bambino che impara a leggere e scrivere deve essere in grado di ragionare verbalmente e di comunicare verbalmente i suoi pensieri, le sue esperienze, i suoi progetti.

*Sviluppo del grafismo*: per imparare a leggere e scrivere, in maniera intelligente, il bambino deve saper già padroneggiare lo strumento grafico come strumento di rappresentazione. Nella nostra cultura non si passa dal geroglifico al grafema e tuttavia oltre al controllo motorio dell'atto grafico, il bambino è molto facilitato se ha avuto la possibilità di usare il disegno come modalità di espressione (affettiva e cognitiva); il bambino che sa differenziare i suoi progetti grafici, senza troppa fatica, può porsi il problema delle *lettere* come segno arbitrario.

*Sviluppo visuo-percettivo*: l'esplorazione visiva del bambino tende a diventare sempre più sistematica proprio fra i 5 e gli 8 anni; il riconoscimento di *pattern* visivi complessi tende, durante questo periodo, a valorizzare sempre più i particolari formali del mondo visivo ed a collegare le ipotesi sulle *gestalten* globali con le ipotesi sui singoli particolari. Un bambino che non sa guardare ed osservare le differenze fra oggetti e fra immagini sarà poco disponibile ad osservare le differenze fra le singole lettere; il processo di globalizzazione in parole sarà più o meno facile a seconda se il bambino si sarà già posto il problema per altre situazioni cognitive visuo-percettive.

In sintesi, per valutare la maggiore o minore maturità di un bambino rispetto all'acquisizione della lettura e scrittura è necessario chiedersi: *a*) se la lettura e scrittura sono prestazioni prevedibili e funzionali nell'economia affettiva e sociale del bambino; *b*) quali livelli di organizzazione sono stati raggiunti per: 1) l. orale; 2) attività grafica, come prassi visuo-costruttiva; 3) attività grafiche, come capacità di analisi e di classificazione visuo-percettive.

Il rapporto fra difficoltà di lettura e scrittura, difficoltà di lateralizzazione e difficoltà dell'integrazione dello schema corporeo, per quanto interessanti, forniscono indici meno precisi per la semeiologia e meno pratici sul piano prognostico rispetto al singolo caso clinico.

*Come valutare una difficoltà di lettura-scrittura:*

1) il bambino copia singole lettere o copia parole già globalizzate?

2) il bambino riconosce, distinguendole, le singole lettere?

3) nel dettato, il bambino è in grado di scrivere: lettera per lettera? parola per parola? per frasi?

4) il bambino è in grado di auto-dettarsi una parola? una frase?

5) il bambino legge lettera per lettera? parola per parola? frase per frase?

6) il bambino capisce quello che ha letto? per parole? per frasi?

7) il bambino è in grado di usare delle istruzioni scritte e a quale livello di complessità?

8) il bambino è in grado di ricordare un racconto che ha letto? conservando la struttura del racconto? conservando anche i particolari? a quale livello di complessità rispetto alla struttura del racconto ed al numero di particolari?

E ancora, sempre in tema di valutazione:

a) che rapporto esiste fra l'organizzazione linguistica del bambino, per il l. orale, e la sua organizzazione cognitiva globale?

b) che rapporto esiste fra l. scritto del bambino e la sua padronanza del l. orale?

c) nel ragionamento verbale esiste una perdita significativa fra quanto il bambino capisce e fra quanto riesce a produrre verbalmente? esiste un'ulteriore perdita quando il bambino deve scrivere i suoi ragionamenti verbali?

In sintesi, la difficoltà di lettura e scrittura è:

1) a livello di controllo del mezzo grafico?

2) a livello di traduzione l. orale-l. scritto?

3) a livello dell'uso cognitivo e relazionale della lettura-scrittura?

**Ritardo di lettura**

Come abbiamo già detto, nelle prime classi elementari dall'8 al 10% dei bambini incontra difficoltà nell'imparare a leggere e a scrivere. Per alcuni di essi le difficoltà andranno diminuendo nel corso degli anni (lasciando spesso come traccia solo una «lentezza» nel fornire le prestazioni richie-





Digitized by Google

ste); altri impareranno a leggere e scrivere, dando un significato a queste prestazioni, ma rispetto ai loro coetanei continueranno a dimostrare notevoli difficoltà; un piccolo numero soltanto continuerà ad incepparsi anche davanti a compiti di lettura e scrittura molto semplici.

Per i primi due gruppi parliamo di *ritardo di lettura* e per l'ultimo di *dislessia*; sull'ampliarsi o restringersi di queste popolazioni e sull'entità del disturbo incidono profondamente fattori sociolinguistici e fattori psicologici-relazionali, che tendono ad organizzare in maniera più o meno seria una difficoltà neuropsicologica spesso non importante.

I bambini con *ritardo di lettura* sono tipici sotto questo aspetto.

*Dal punto di vista neurologico* rivelano soltanto i segni della cosiddetta piccola disfunzione neurologica (*Minimal Brain Dysfunction* degli AA. anglosassoni [MBD]) e/o i segni di una maturazione neurologica incompleta (lievi alterazioni nei riflessi; piccole variazioni di tono muscolare; persistenza di sincinesie; instabilità motoria; ipercinesia percettiva; tempi di attenzione brevi; iperreattività emotiva, linguaggio dislalico, per quanto strutturato; disegno povero sul piano della progettazione grafica).

*Dal punto di vista psicologico* questi bambini vivono la scolarizzazione come una grossa prova sociale e psicologica e sono molto pesanti le differenze fra la cultura scolastica e quella prescolastica, in particolare perché questi bambini non hanno ancora «investito» a sufficienza gli strumenti cognitivi, in quanto è ancora molto ampia l'area conflittuale dell'Io (ingresso incompleto nella fase di latenza; conflitti di identificazione fra famiglia e scuola).

*Dal punto di vista neuropsicologico* questi bambini non possiedono un deficit specifico; conoscono il l. anche se ne hanno una padronanza incompleta (non sanno ancora compiere delle operazioni metalinguistiche); hanno o possono avere delle difficoltà di lateralizzazione o uno schema corporeo incompleto, ma ambedue i dati corrispondono più a un ritardo maturativo che a un disturbo specifico.

*Sul piano della lettura e scrittura*: non incontrano difficoltà nel copiato, nel dettato e nella lettura delle parole, mentre incontrano discrete difficoltà nell'auto-dettato e nella lettura di frasi intere. Essi, inoltre, presentano dispersione di significato a livello della lettura di racconti e compiono molti errori di confusione fonemica ed elisioni nella scrittura spontanea.

Nell'insieme si può dire che questi bambini leggono e scrivono male, pur imparando a leggere e scrivere non troppo tardi (in genere entro l'inizio del secondo anno di scuola). Prevalgono le difficoltà esecutive nella lettura e nella scrittura, rispetto a quelle di integrazione del significato. Le difficoltà a livello del l. scritto sono in parte compatibili con il livello di maturazione raggiunta per il l. orale.

La prognosi è di per sé favorevole; il problema è maturativo e molto dipende dall'interazione pedagogica: se si sanno rispettare i tempi del bambino non dovrebbero residuare difficoltà con il compimento della scuola elementare. L'estenderei del problema dipende dal tipo di politica scolastica condotta all'interno della classe.

**Dislessia evolutiva**

Per un piccolo gruppo di bambini l'apprendimento della lettura e della scrittura è sin dall'inizio un grosso problema, tanto che la semplice percezione del codice scritto e la scomposizione-traduzione del l. orale in l. scritto costituiscono una prestazione da comprendere. Anche in questo caso, come in quello precedente, ci sono segni neurologici e problemi psicologici, ma in forma più netta ed evidente.

*Dal punto di vista neuropsicologico* esiste una caratterizzazione più netta: le utilizzazioni cognitive del l. orale sono molto ridotte. Questi bambini raccontano male, ricordano in maniera incompleta le narrazioni verbali che pure comprendono, non sanno organizzare in maniera coerente (rispetto alle loro capacità di comprensione verbale) la produzione verbale come racconto; infine, incontrano difficoltà molto serie nello *spelling* e, reciprocamente, nel fondere in parole delle sequenze di fonemi (parole scomposte).

*Sul piano della lettura e scrittura*: per molti mesi questi bambini rimangono fermi a livello del copiato e della trascrizione più o meno meccanica, mentre dettato e lettura sono possibili solo al livello sillabico e non esistono come globalizzazione delle parole e delle frasi; ancora dopo due o tre anni di scuola non riescono a dare un significato pratico a quello che scrivono ed a quello che leggono.

Quando queste prestazioni sono acquisite, oltre agli errori di traduzione fonologica sono presenti molti errori di programmazione sintattica e di proiezione lessicale: le frasi scritte (o per autodettato o come pensierino spontaneo) sono difficilmente comprensibili a chi non conosce il testo e si riscontrano condensazioni fonologiche, contrazioni sintattiche e lessicali, fusioni e perseverazioni fra diversi segmenti della frase che rendono il testo poco chiaro (persino alla rilettura del bambino stesso).

Col passare degli anni poi le reazioni psicologiche del bambino al suo disturbo tendono a diventare anche più importanti: il bambino ha tempi di applicazione sempre più brevi ed ha l'impressione vistosa di confondersi mentre legge e scrive.

Il bambino dislessico ha una difficoltà neurolinguistica più profonda: ha dei problemi anche a livello di l. interno; nelle sue produzioni gli errori sono di significato, oltre che di esecuzione; inoltre difficoltà visuo-percettive e visuografiche tendono a complicare la situazione anche se (a differenza di quanto riscontrato nei bambini con p.c.i. e r.m.) non sono prevalenti.

Dopo diversi anni di scuola è veramente difficile stabilire quanto la cronicizzazione del disturbo dipenda da fattori neuropsicologici (sicuramente presenti) e quanto da interazioni psicologiche e pedagogiche particolarmente demotivanti.

È probabile che il disturbo potrebbe essere ridotto (almeno di intensità): *a*) se l'apprendimento della lettura fosse più coordinato con l'espansione e l'integrazione cognitiva del l. orale; *b*) se nella pratica pedagogica il bambino fosse più aiutato a concentrarsi sul *significato* della lettura-scrittura piuttosto che sulla loro esecuzione.

Se questi due principi sono rispettati e se anche il controllo sulle prestazioni visuo-grafiche viene affrontato come un problema di prattognosie a significato, i bambini dislessici possono arrivare alla fine del ciclo elementare: leggendo e scrivendo a significato in maniera accettabile, anche se con frequenti errori fonologici.

**Difficoltà di lettura e scrittura nei bambini con ritardo mentale (r. m.)**

I bambini con difficoltà intellettive tendono a incontrare delle difficoltà nell'apprendimento di prestazioni complesse come la lettura e la scrittura e il grado di difficoltà è ovviamente proporzionale alla severità e alla strutturazione del disturbo intellettivo.

Per i bambini con r. m. di grado medio-grave o grave il problema non viene quasi mai posto perché i problemi cognitivi sono tali da limitare già l'apprendimento del l. orale.

Per i bambini con r. m. lieve e medio-lieve il problema viene spesso posto e quasi sempre in maniera non corretta:





Digitized by Google

in questo contesto non è possibile dilungarci sul significato delle sindromi di r. m. tipo *borderline*, sulle pseudo-insufficienze mentali e sulle insufficienze mentali lievi e basterà ricordare che questo capitolo clinico è molto controverso. Non si sa bene cosa significhi il rilievo che il 2% della popolazione scolastica può essere condensata in una fascia clinica così dubbia; sta di fatto che spesso il giudizio sul bambino e la sua carriera scolastica viene lasciato in sospeso, in rapporto all'apprendimento della lettura e della scrittura.

Dal punto di vista clinico è importante tenere presenti questi tre elementi:

1) l'apprendimento della lettura e scrittura dipende dalla maturità dell'organizzazione cognitiva del bambino (spesso per i bambini diagnosticati come r. m. lievi si tratta *solo* di un problema di maturazione, tant'è vero che in età adulta la percentuale cade);

2) una carriera scolastica centrata sui punti deboli del bambino tende a strutturare il deficit e non a risolverlo;

3) fin dalle indicazioni di Binet, l'apprendimento della lettura e scrittura è stato ritenuto un obiettivo possibile per questi bambini; il punto è di non proporre (sulla base di vecchie eredità della pedagogia speciale) questo apprendimento in maniera condizionata e demotivante, ma di proporlo nell'ambito dell'economia cognitiva globale del bambino, con il rispetto dei suoi tempi.

Un problema aperto si pone spesso per i bambini con r. m. di grado medio: questi bambini vengono frequentemente torturati per anni con richieste centrate sulla lettura e scrittura, senza che nulla venga fatto per verificare se la richiesta è legittima rispetto all'organizzazione cognitiva del bambino. In particolare dovrebbe valere il principio che la lettura e la scrittura possono essere apprese quando lo sviluppo cognitivo-comunicativo raggiunge una certa organizzazione; nel caso dei bambini con r. m. di grado medio (poiché non è possibile stabilire quanto questa diagnosi tenga quantitativamente nel tempo) l'investimento pedagogico andrebbe fatto sui prerequisiti (disegno, logica, l. orale) della lettura e scrittura (che spesso sono invece sacrificati).

Dal punto di vista neurolinguistico le prestazioni dei bambini con r. m. di grado lieve sono, per la lettura o la scrittura, una via di mezzo fra quelle dei bambini con ritardo di lettura e quelle dei bambini con dislessia: l'orientamento educativo dovrebbe assecondare la valutazione neurolinguistica. Sul piano della prognosi le difficoltà di questi bambini hanno un esito favorevole.

Dal punto di vista neurolinguistico le prestazioni dei bambini con r. m. di grado medio sono simili a quelle dei bambini dislessici, in forma più grave; spesso il bambino ha dei problemi già nel riconoscimento o nel copiato delle singole lettere; la persistenza a questo stadio dell'apprendimento è un indice semeiologico importante.

#### Difficoltà di lettura e scrittura nei bambini con paralisi cerebrali infantili (p. c. i.)

Per questi bambini vale in gran parte il discorso fatto per i bambini con r. m.: la tipologia e l'evoluzione del disturbo sono proporzionali alla tipologia dei problemi intellettivi.

Va aggiunta una sola osservazione e cioè che nei bambini con p. c. i. sono presenti in maniera netta e significativa anche problemi visuo-percettivi e visuo-grafici; se per gli altri gruppi di bambini è un errore frequente il sopravvalutare l'entità di queste problematiche, un errore altrettanto frequente è quello di sottovalutare il problema nei bambini con p. c. i.

Sul piano semeiologico: 1) sono evidenti le difficoltà di gestaltizzazione visuo-grafica e di globalizzazione della parola; 2) sono rilevanti le disgrafie sia come problema di controllo motorio che come problema di ideazione; 3) tipica, infine, è la dissociazione fra lettura e scrittura e quella fra scrittura a mano e scrittura con caratteri preparati (o a macchina).

La prognosi è correlata in particolare alle strategie cognitive globali.

#### Bibliografia


Benton A. L., Pearl D. eds., *Dyslexia. An Appraisal of Current Knowledge*, 1979, Oxford University Press, New York.

Levi G., *Epidemiologia e patogenesi dei disturbi di apprendimento in età evolutiva*, in *Aggiornamenti in Neurologia Infantile*, III, 1978, Il Pensiero Scientifico, Roma, 118-125.

Levi G., Capozzi F., Fabrizi A., Sechi E., *Perceptual and Motor Skills*, 1982, **54**, 119-1122.

Levi G., Sechi E., Parisi C., *Psichiatria dell'Infanzia e dell'Adolescenza*, 1987, **54**, 2, 121-131.

Levi G., Musatti L., *Profili cognitivi nei bambini con disturbo specifico di apprendimento*, in *Atti Convegno Montichiari*, 1987, 19-27.

Levi G., Musatti L., *I Care*, 1988, **1**, 39-44.

Levi G., Diomede L., Musatti L., Sechi E., *Psichiatria dell'Infanzia e dell'Adolescenza*, 1988, **5**, 3-4, 395-406.

Rouske B. P. *et al.*, *Child Neuropsycology*, 1983, Guilford Press, London.


GABRIEL LEVI

## LIPEMIA [v. vol. VIII, col. 2059]

#### Determinazione della lipemia totale

La determinazione dei lipidi totali contenuti nel siero può essere effettuata con diverse metodiche, quali le tecniche gravimetriche e titrimetriche, i metodi colorimetrici e turbidimetrici. In realtà, la varietà dei componenti lipidici del siero è tale che risulta tecnicamente non facile avere a disposizione una metodica accurata e sensibile per la valutazione dei lipidi totali. D'altra parte risulta importante, dal punto di vista clinico e fisiopatologico, conoscere le modificazioni delle singole componenti lipidiche del siero, quali il colesterolo nelle sue frazioni, i trigliceridi, gli acidi grassi non esterificati (NEFA), i fosfolipidi liberi e coniugati. Pertanto risulta attualmente di scarsa importanza clinica la determinazione della lipemia totale, indipendentemente dalla metodica utilizzata.

Per quanto concerne le metodiche di determinazione delle singole componenti lipidiche del siero, non vi sono novità rispetto ai testi descritti nella voce LIPEMIA (VIII, 2063-2070).

V. anche: IPERLIPOPROTEINEMIE E IPOLIPOPROTEINEMIE (VIII, 63); IPERLIPOPROTEINEMIE E IPOLIPOPROTEINEMIE*; LIPOPROTEINE (VIII, 2132); LIPOPROTEINE*.

RED.

## LIPOPROTEINE [v. vol. VIII, col. 2132]

SOMMARIO



#### Generalità e composizione

Le lipoproteine plasmatiche sono composti macromolecolari costituiti da una parte lipidica (colesterolo, trigliceridi, fosfolipidi) e da una parte proteica (apolipoproteine) (tab. I). Quest'ultima componente è stata particolarmente studiata negli ultimi anni permettendo una maggior comprensione delle caratteristiche specifiche delle varie classi



Digitized by Google

TAB. 1. LIPOPROTEINE PLASMATICHE

| | Chilomicroni | VLDL | IDL | LDL | HDL2 | HDL3 | Lp(a) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Caratteristiche fisiche* | | | | | | | |
| Densità (g/ml) | < 0,95 | 0,95-1,006 | 1,006-1,019 | 1,019-1,063 | 1,063-1,125 | 1,125-1,210 | 1,05-1,12 |
| Velocità di flottazione (Swedberg) | > 400 | 20-400 | 12-20 | 0-12 | 3,5-9 | 0-3,5 | |
| Peso molecolare (dalton) | $10^7$ | $5\text{-}100 \cdot 10^6$ | $2,5\text{-}5 \cdot 10^6$ | $2,5 \cdot 10^6$ | $3,6 \cdot 10^5$ | $1,8 \cdot 10^5$ | $5\text{-}7 \cdot 10^5$ |
| Diametro (nm) | 80-1000 | 30-80 | 25-30 | 19-25 | 8-11 | 6-9 | 23-26 |
| Mobilità elettroforetica | origine | pre-beta | pre-beta lente | beta | alfa | alfa | pre-beta lente |
| *Composizione chimica (% peso secco)* | | | | | | | |
| Proteine | 1-2 | 6-10 | 12-16 | 20-25 | 35-40 | 45-55 | 29 |
| Fosfolipidi | 2-8 | 12-18 | 15-22 | 20-25 | 30-40 | 25-35 | 22 |
| Colesterolo libero | 1 | 5-8 | 7-11 | 6-10 | 4-6 | 1-3 | 10 |
| Colesterolo esterificato | 1-3 | 8-14 | 20-35 | 35-45 | 15-20 | 10-18 | 36 |
| Trigliceridi | 90-96 | 50-65 | 25-40 | 6-12 | 3-8 | 3-6 | 3 |
| *Composizione apolipoproteica (%)* | | | | | | | |
| A-I | 33 | 2 | — | — | 65 | 62 | — |
| A-II | tracce | tracce | — | — | 10 | 23 | — |
| A-IV | 14 | — | — | — | — | tracce | — |
| B | 5 (B48) | 30-40 | 70-80 | 90-95 | — | — | variabile |
| C | 32 | 40-50 | 4-8 | 2 | 10-15 | 5 | — |
| E | 10 | 15 | 10-15 | 3 | 3 | 1 | — |
| Altre | 6 | 5 | 5 | 5 | 4 | 5 | variabile Apo(a) |

lipoproteiche e un approfondimento delle loro interrelazioni metaboliche. Ad essa verrà riservato ampio spazio in questa trattazione.

Le l. sono state suddivise in base ai diversi metodi utilizzati per la loro separazione: la classificazione standard è basata sulla centrifugazione ad alta velocità (ultracentrifugazione) eseguita a concentrazioni saline crescenti. In tal modo vengono sequenzialmente separati i chilomicroni ($d < 0,95$ g/ml), presenti solo nella fase post-prandiale, le l. a densità molto bassa (VLDL : $d = 0,95\text{-}1,006$ g/ml), le l. a bassa densità (LDL : $d = 1,006\text{-}1,063$ g/ml) e quelle ad alta densità (HDL : $d = 1,063\text{-}1,210$ g/ml). Se la metodica utilizzata è l'elettroforesi (in agaroso o altri supporti) le stesse macromolecole prendono il nome di: chilomicroni (che per la loro massa considerevole rimangono pressoché immobili nel punto di semina), pre-beta-, beta- e alfa-l. (in relazione alla loro corrispondente migrazione in campo elettrico). Questa utile semplificazione non appare tuttavia adatta per ogni scopo e risulta incapace di illustrare la complessità del sistema delle l. circolanti. Ad una più approfondita analisi le classi sovradescritte possono essere ulteriormente differenziate: le VLDL mediante ultracentrifugazione zonale sono risolte in vari picchi di densità e ciò appare vero, in particolare, nei soggetti affetti da ipertrigliceridemia. Analogamente, le LDL vengono suddivise in IDL (l. a densità intermedia, $d = 1,006\text{-}1,019$ g/ml) e LDL2 ($d = 1,019\text{-}1,063$ g/ml), le prime rappresentando, con ogni probabilità, una forma di transizione metabolica tra VLDL e LDL2. Un'analisi tramite ultracentrifugazione in gradiente ha permesso di individuare distinte frazioni LDL cui sono stati attribuiti vari nomi (LDL *light/dense*; LDL polidisperse). L'esame in gel di poliacrilamide in gradiente (2-16%) ha permesso l'ulteriore risoluzione di numerose bande di l. a bassa densità.

Anche le l. ad alta densità sono state suddivise in varie frazioni, principalmente HDL2, HDL3 (a loro volta eterogenee) e HDL1.

Lp(a) è il nome di una l. con densità compresa tra 1,050 e 1,120 g/ml che, pur comune a tutti gli individui, presenta livelli plasmatici variabili da valori virtualmente non determinabili a oltre 200 mg/dl.

In condizioni patologiche compaiono nel plasma altre particelle: LpX in corso di ostruzione biliare; la beta-l. flottante (beta-VLDL) nei soggetti affetti da dislipoproteinemia a fenotipo III di Fredrickson; le particelle discoidali lamellari nella carenza di enzima LCAT (lecitina-colesterolo aciltransferasi).

Le classi lipoproteiche si diversificano non solo per il contenuto complessivo di proteine e lipidi, ma anche per la presenza di specifiche apolipoproteine. Con l'eccezione delle LDL, che contengono solo Apo B-100, ogni frazione presenta una combinazione caratteristica di apolipoproteine. Come può essere desunto dai rispettivi pesi molecolari, esse costituiscono un gruppo estremamente eterogeneo e la loro presenza determina il destino metabolico delle particelle che le contengono. Nella tab. II sono rappresentate le apolipoproteine fino ad ora identificate, le loro caratteristiche e le funzioni note o anche solo ipotizzate.

Apo A-I è la principale costituente delle HDL (composte per il 50% da proteine e per il 50% da lipidi; Apo A-I costituisce il 70% delle proteine presenti). La sua normale concentrazione plasmatica si aggira intorno a 100-150 mg/dl; è l'attivatore dell'enzima lecitina-colesterolo aciltransferasi, responsabile della esterificazione plasmatica del colesterolo. Il gene codificante per tale apolipoproteina è localizzato sul braccio lungo del cromosoma 11, in stretto contatto con i geni delle apolipoproteine C-III e A-IV. La sua sintesi intracellulare porta alla formazione di una pre- proapolipoproteina contenente un prepeptide di 16 aminoacidi, scisso entro la cellula, e di un propeptide di 6 aminoacidi liberato a livello intravascolare.

Apo A-II è la seconda più importante apolipoproteina presente nelle HDL (20% delle proteine totali). La sua concentrazione plasmatica si aggira intorno a 30-50 mg/dl.





Digitized by Google

**TAB. II. CARATTERISTICHE DELLE APOLIPOPROTEINE**

| Apolipo-proteina | Peso molecolare | Numero aminoacidi | Concentrazione plasmatica | Sintesi | Emivita | Funzione |
|---|---|---|---|---|---|---|
| A-I | 28.000 | 243 | 100-150 mg/dl | I, F | 4-6 gg | Strutturale<br>Attivazione LCAT<br>Legame recettore A-I |
| A-II | 17.500 (dimero) | 154 | 30-50 mg/dl | F | 4-5 gg | Strutturale<br>Attivazione lipasi epatica |
| A-IV | 44.500 | 376 | 15 mg/dl | I, F | 1 g | Attivazione LCAT |
| B-100 | 513.000 | 4536 | 70-120 mg/dl | F | 2 gg | Legame recettori Apo B, E (LDL)<br>Strutturale |
| B-48 | 241.000 | 2152 | 5 mg/dl | I | < 1 h | Strutturale |
| C-I | 6500 | 57 | 4-10 mg/dl | F | ? | Attivatore LCAT, LPL (?) |
| C-II | 8500 | 73 | 3-5 mg/dl | F | 1 g | Attivatore LPL |
| C-III | 8750 | 79 | 8-15 mg/dl | F | 5 gg | Inibitore LPL<br>Attivatore LCAT<br>Modulazione captazione *remnant* |
| D (A-III) | 19.500 | 169 | 5-10 mg/dl | ? | ? | Trasporto colesterolo<br>Cofattore LCAT |
| E | 34.000 | 299 | 2-7 mg/dl | F, M, C, S, G<br>G, R, MS, M | 14-18 h | Legame recettore Apo B, E<br>Affinità eparina<br>Formazione HDL1<br>Metabolismo S.N.C. |
| Apo(a) | 300.000-700.000 | variabile | 2 mg/dl* | F | 3 gg | Interazione col sistema coagulativo |

LCAT = lecitina-colesterolo aciltransferasi; LPL = lipasi lipoproteica; I = intestino; F = fegato; M = milza; C = cervello, S = surreni; G = gonadi; R = rene; MS = muscolo striato, M = macrofagi.
* = molto variabile.

*In vitro* attiva la lipasi epatica e inibisce l'LCAT. Il suo gene è localizzato a livello del cromosoma 1. Anch'essa è sintetizzata come pre- pro-peptide, ma entrambe le fasi di scissione maturativa avvengono a livello intracellulare. In circolo è localizzata soprattutto nelle HDL3 come dimero, composto da due catene di 77 aminoacidi legate da un singolo ponte disolfuro.

Apo B è la principale proteina costituente delle LDL ma si trova anche nei chilomicroni e nelle VLDL. Le LDL risultano formate circa per il 75% da lipidi e per il 25% da proteine, quasi esclusivamente Apo B. La sua concentrazione plasmatica è normalmente 70-120 mg/dl e la sua sintesi appare necessaria per la secrezione epatica e intestinale delle l. ricche in trigliceridi. È riconosciuta da specifici recettori ad alta affinità che mediano la clearance delle LDL dal plasma. Si tratta di una glicoproteina presente in due forme, dette B-100 e B-48. La prima è una singola catena di oltre 4500 aminoacidi con p. m. 512.937 d; la seconda ha p. m. di circa la metà e si ritrova nelle l. di sintesi intestinale. Probabilmente una singola molecola di Apo B è presente in ogni particella di LDL. Un'ulteriore classe di l., Lp(a), contiene Apo B come costituente, in tal caso legata tramite ponte disolfuro con una seconda componente proteica: Apo(a). Apo B-48 e Apo B-100 sembrano essere trascritte a partire da un singolo gene localizzato nel braccio corto del cromosoma 2.

Apo C-I è un costituente di VLDL e HDL; la sua concentrazione plasmatica è di 4-10 mg/dl. *In vitro* risulta attivatore dell'LCAT ma il suo ruolo *in vivo* non è ancora ben documentato. Il suo gene, assieme a quelli di Apo C-II e Apo E, si trova a livello del cromosoma 19.

Apo C-II è una proteina con distribuzione simile alla precedente, con concentrazione plasmatica di 3-5 mg/dl. Esplica attività di cofattore della lipasi lipoproteica e la sua assenza determina una grave alterazione del metabolismo delle l. ricche in trigliceridi.

Apo C-III è un glicopeptide caratterizzato da una probabile attività inibitoria a livello della lipasi lipoproteica. Anche esso si trova distribuito in massima parte nelle VLDL e HDL.

Apo E costituisce il 10-20% delle proteine di VLDL e HDL; la sua catena aminoacidica è composta da 299 residui e presenta una concentrazione plasmatica di 2-7 mg/dl. L'analisi gel elettroforetica ha consentito di dimostrare che numerose isoproteine, differenti per carica elettrica e sequenza aminoacidica, concorrono alla sua formazione. È stato dimostrato che le 3 principali isoforme di Apo E (E2, E3, E4) possono essere spiegate con l'esistenza di 3 alleli in un singolo *locus* genetico. Le varie catene polipeptidiche si differenziano per una singola sostituzione aminoacidica. Ne derivano 6 fenotipi comuni: E2/2, E3/3, E4/4 (omozigoti), E2/3, E2/4, E3/4 (eterozigoti). Inoltre, un ulteriore polimorfismo di Apo E deriva dalla presenza di forme variamente legate all'ac. sialico. Una grave alterazione del metabolismo lipidico, la disbetalipoproteinemia (fenotipo III), è di frequente associata al fenotipo E2/2; in tal caso il legame di Apo E2 con il rispettivo recettore ad alta affinità risulta alterato, e nel plasma si accumulano *remnant* di l.

Apo(a) è l'apolipoproteina caratteristica di una classe ancora incompletamente definita di particelle: Lp(a). La sua concentrazione può variare nel plasma di vari soggetti per oltre 3 ordini di grandezza. Risulta legata ad Apo B tramite legame disolfuro; ha una struttura caratterizzata da un numero variabile (37 o più) di unità ripetitive e appare molto simile al plasminogeno plasmatico. I geni di queste due proteine si trovano a livello del cromosoma 6 e sono fra loro prossimi. Entrambe sono sintetizzate dal fegato. Sembra che Apo(a) *in vivo* possa determinare una inibizione dell'attivazione del plasminogeno e di conseguenza uno stato procoagulante.

Le l. circolanti, grazie alla loro particolare struttura, riescono a mantenere in forma solubile nel plasma i lipidi apolari. Ciascuna macromolecola appare sferica, costituita da uno strato superficiale di molecole polari (apolipoproteine, fosfolipidi — soprattutto fosfatidilcolina — colesterolo libero) che racchiudono una zona centrale in cui sono





Digitized by Google

raccolti i lipidi apolari (esteri del colesterolo, trigliceridi). In tal modo questi ultimi possono essere trasportati nel plasma stesso.

**Sintesi e metabolismo**

*Chilomicroni e VLDL*

Sono i principali vettori dei trigliceridi. I chilomicroni, di produzione intestinale, trasportano grassi esogeni assorbiti con la dieta; le VLDL, secrete dal fegato, veicolano principalmente trigliceridi endogeni (fig. 1). Nei chilomicroni nascenti sono contenute Apo B-48, Apo A-I e Apo A-IV; in seguito essi acquistano Apo C ed Apo E dalle HDL circolanti. Apo C-II, così assunto, li rende aggredibili dall'enzima lipasi lipoproteica (LPL) localizzato a livello dei capillari dei tessuti extraepatiei (soprattutto del tessuto muscolare e adiposo). Esso determina l'idrolisi di gran parte dei trigliceridi contenuti nel loro nucleo rendendoli disponibili per le esigenze dei diversi tessuti (metaboliche o di riserva). In tal modo il loro volume decresce e si determina un eccesso di costituenti di superficie. Questi (fosfolipidi, colesterolo e parte delle apolipoproteine) si staccano dalla superficie stessa sotto forma di dischi bilamellari, considerati precursori delle HDL. I chilomicroni *remnant* che in tal modo residuano sono assunti dal fegato tramite un processo recettore-mediato.

Le VLDL sono prodotte e secrete dagli epatociti. Le apolipoproteine in esse contenute sono principalmente B-100, C e E. Sono ricche di trigliceridi e veicolano una certa quantità di fosfolipidi e colesterolo libero ed esterificato; subiscono un destino metabolico simile a quello descritto per i chilomicroni. Tuttavia, circa la metà dei loro *remnant* (IDL) non viene degradata dal fegato tramite il legame con il recettore per Apo B, E, ma si trasforma, attraverso tappe metaboliche intermedie, in LDL. Ciò pare indicare un differente metabolismo di diverse sottopopolazioni di VLDL e/o molteplici meccanismi responsabili del loro catabolismo.

*LDL, HDL e meccanismo recettoriale*

Tali l. rappresentano i principali *carriers* del colesterolo ematico. Come già descritto, le LDL si formano a partire dalle VLDL che non vengono degradate dal fegato (fig. 1). Circa i 2/3 del loro metabolismo avviene tramite captazione delle stesse dopo legame con uno specifico recettore presente sulla superficie degli epatociti e delle cellule extraepatiche. Il recettore è una glicoproteina di superficie, costituita da 839 aminoacidi ripartiti in 5 regioni funzionalmente differenti (domini) (fig. 2) il cui gene è mappato nel cromosoma 19. Esso è in grado di legare due proteine: Apo B-100, unica apolipoproteina delle LDL, e Apo E, proteina presente nelle VLDL, IDL e in una sottoclasse di HDL (HDL1). Viene sintetizzato nel reticolo endoplasmatico rugoso e in seguito trasportato sulla superficie cellulare dove si raccoglie nelle *coated pits* (fossette ricoperte) che sono regioni specializzate del plasmalemma, internamente ricoperte da una proteina detta clatrina. Le *coated pits* ciclicamente formano vescicole endocitotiche veicolando all'interno della cellula le LDL legate dal recettore. Queste

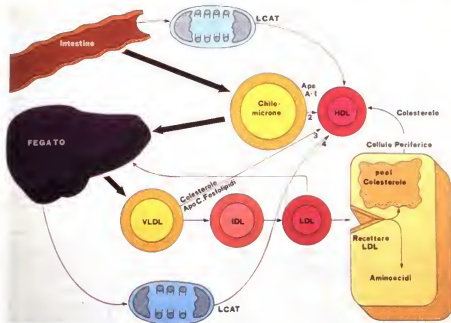



Fig. 1. Sintesi e interconversione delle l. plasmatiche.




Digitized by Google

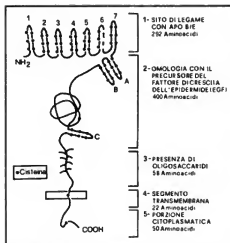



Fig. 2. Il recettore LDL: una singola proteina con 5 regioni funzionali differenti.

vengono quindi degradate da enzimi idrolitici dopo fusione dell'endosoma con un lisosoma, mentre i recettori ritornano alla superficie cellulare. Il colesterolo che si libera all'interno della cellula esercita 3 risposte regolatorie omeostatiche: 1) soppressione dell'attività dell'enzima idrossi-metil-glutaril-CoA reduttasi (HMG-CoA reduttasi), e in tal modo inibizione della sintesi *de novo* del colesterolo; 2) attivazione dell'enzima acil-colesterolo aciltransferasi (ACAT) che rende possibile formazione e immagazzinamento di esteri del colesterolo; 3) riduzione del numero dei recettori LDL sulla superficie cellulare (fig. 3).

Il numero di recettori LDL aumenta nell'uomo per effetto di ormoni come la tiroxina o di farmaci quali le resine a scambio ionico e gli inibitori dell'enzima HMG-CoA reduttasi.

Un terzo circa delle LDL circolanti è assunto da vari tessuti, in prevalenza il sistema reticoloistiocitario, attraverso una via differente. Essa consta con ogni probabilità di più meccanismi, alcuni dei quali recettore-indipendenti, altri mediati da uno o più recettori (caratterizzati di recente) in grado di riconoscere forme modificate delle l. circolanti (v. sotto).

Le HDL sono la classe più eterogenea di l., originando da varie fonti. Secondo molti AA. esse svolgono preminentemente una funzione di trasporto inverso del colesterolo, prelevandolo dalle cellule periferiche e depositandolo quindi nel fegato, principale organo preposto al suo catabolismo. La loro formazione avviene in diverse sedi, nel fegato, nell'intestino, così come in circolo durante il catabolismo delle l. ricche in trigliceridi ad opera della LPL (fig. 1). Tali HDL native, in forma di disco bilamellare, sono composte prevalentemente da fosfolipidi e Apo A-I; assumerebbero colesterolo libero dalle membrane cellulari o da altre l. Quest'ultimo, ad opera dell'enzima lecitina-colesterolo aciltransferasi (LCAT), attivato da Apo A-I, viene esterificato, e, diventando apolare, penetra nel *core* della particella, determinando la formazione di l. sferiche con caratteristiche simili alle HDL3. Le particelle così formatesi ricevono apolipoproteine e lipidi dalla degradazione di chilomicroni e VLDL, ad opera della LPL, e dai tessuti periferici per dare origine a HDL2. Vi è anche evidenza di un metabolismo inverso HDL2 → HDL3, ad opera di proteine che trasferiscono esteri del colesterolo (*Cholesterol Ester Transfer Protein*, CETP), in grado di scambiare esteri di colesterolo con trigliceridi contenuti in VLDL, IDL e LDL e della lipasi epatica (HTGL), dotata anche di attività fosfolipasica, che idrolizza i trigliceridi del *core* e i fosfolipidi. Le HDL sono una importante riserva di C-peptidi che possono essere ceduti alle altre classi lipoproteiche: i meccanismi che regolano questi continui passaggi non appaiono del tutto chiari. Del resto molti aspetti della degradazione delle HDL rimangono ancora ignoti.

Contrariamente alle LDL, che sono degradate come particelle intere, i vari componenti delle HDL sembrano essere metabolizzati a velocità diverse da differenti tessuti: il fegato e le ghiandole produttrici di ormoni steroidi assumono maggiormente colesterolo che Apo A-I, mentre il rene catabolizza preferenzialmente Apo A-I. Negli ultimi anni intense ricerche hanno studiato se l'interazione HDL-cellule avvenga tramite un recettore specifico. Nei tessuti

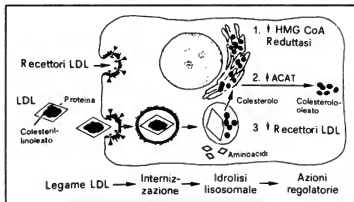



Fig. 3. Catabolismo cellulare delle l. a bassa densità per via recettoriale.





Digitized by Google

capaci di degradare le HDL sono stati evidenziati siti di legame ad alta affinità per tali l.; Apo A-I pare essere la mediatrice di tale legame.

**Lipoproteine e aterogenesi**

Il sempre maggior interesse rivolto allo studio delle l. plasmatiche è in massima parte dovuto alla associazione saldamente definita tra iperlipoproteinemia e aterosclerosi. Studi epidemiologici, clinici e sperimentali hanno correlato la presenza di vasculopatia degenerativa e alterazioni del metabolismo lipidico. Aspetti molteplici e ancora in gran parte indefiniti, sottendono tale rapporto.

Indubbiamente elevati livelli di LDL sono un fattore di rischio di aterosclerosi precoce, in particolare quando la capacità delle stesse di essere degradate attraverso la via del recettore per Apo B/E risulti ridotta. Tra le altre l., l'accumulo di *remnant* di chilomicroni e VLDL è pure in chiara relazione con un precoce danno vascolare, mentre i chilomicroni e le VLDL intatte appaiono essere l. non aterogene.

Il già descritto trasporto inverso del colesterolo fornisce una possibile spiegazione del perché elevati livelli di HDL siano protettivi. Deve essere comunque sottolineato che l'efficienza di tale via metabolica risulta caratterizzata in modo incompleto da una valutazione «statica» delle l.

Di recente è stato posto l'accento sulla potenzialità aterogena di l. «modificate» ed è apparso evidente come questo possa risultare un altro anello di congiunzione tra alterazioni del metabolismo lipidico e patologia vascolare degenerativa. Studi *in vivo* ed *in vitro* avvalorano l'ipotesi che le LDL, una volta depositate a livello dell'intima arteriosa, possano essere ossidate per azione di enzimi (lipossigenasi) o di ossigeno attivo, ad opera di monociti, cellule endoteliali e muscolari lisce. La formazione di LDL, contenenti lipidi ossidati e Apo B degradata, sarebbe responsabile sia di un effetto citotossico amplificatore del fenomeno stesso (necrosi di cellule endoteliali; ulteriore insudazione intimale di LDL) che della comparsa di cellule schiumose. Queste ultime, di probabile origine macrofagica, assumerebbero rapidamente tali l. per il tramite di un recettore specifico e, incapaci di metabolizzarle completamente, ne subirebbero l'effetto tossico.

Composti generati durante la conversione di LDL in forma ossidata (lisolecitina) sembrano inoltre responsabili della chemiotassi dei monociti circolanti e di un ulteriore ingrandimento della placca ateromatosa in formazione.

È accertato, infine, che elevati livelli di Lp(a) rappresentano un fattore di rischio di aterosclerosi. Il meccanismo d'azione sembra connesso con una inibita attivazione del plasminogeno: in tal caso l'aumentata trombogenesi sarebbe responsabile del propagarsi del processo degenerativo. Queste ipotesi necessitano tuttavia di ulteriori conferme clinico-sperimentali.

**Bibliografia**


Eisenberg S., *J. Lipid Res.*, 1984, **25**, 1017-1058.
Fellin R., Baggio G., Crepaldi G., *Le dislipidemie primitive e secondarie*, in *Patologia Medica. Aggiornamento 1989*, 1989, Piccin, Padova, pp. 563-583.
Gordon D. J., Rifkind B. M., *N. Engl. J. Med.*, 1989, **321**, 1311-1316.
Gotto A. M. jr., *Plasma Lipoproteins*, 1987, Elsevier, Amsterdam.
Scriver C. L. *et al.* eds., *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, 1989, 6 ed., McGraw-Hill, New York, pp. 1129-1282.
Steinberg D., Parthasarathy S. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1989, **320**, 915-924.
Utermann G., *Science*, 1989, **246**, 904-910.


RENATO FELLIN E GIOVANNI BATTISTA VIGNA

## LIPOSOMI

F. *lyposomes*. - I. *liposomes*. - T. *Lyposomen*. - S. *liposomas*.

I liposomi sono vescicole microscopiche che si formano spontaneamente ponendo in acqua molecole di fosfolipidi. Sono usate come dispositivi per l'immagazzinamento, la somministrazione e il rilascio intracellulare di sostanze biologicamente attive, spesso ad alta tossicità, ad es. farmaci antiblastici e immunomodulatori. Degradabili, non immunogeni, e potenzialmente non tossici, somministrati per via endovenosa, i l. vengono catturati dalle cellule del sistema reticoloendoteliale, in gran parte dai macrofagi della milza e del fegato e dai monociti circolanti, che li degradano a livello lisosomale liberando il loro contenuto; i due processi, di cattura e di lisi intracellulare, possono essere regolati in qualche modo modificando le caratteristiche fisicochimiche dei l., in particolare le dimensioni, la stabilità e altre ancora. Sono anche allo studio l. che aumentano la liberazione del contenuto in risposta a stimoli come variazioni termiche, luminose, del pH e di altri parametri.

Realizzati per la prima volta agli inizi degli anni '60 da A. Bangham, dell'*Institute of Animal Physiology* di Cambridge, i l. sono costituiti da uno o più strati concentrici di fosfolipidi naturali e si formano quando questi sono sospesi in una soluzione acquosa, con la parte idrofila della molecola rivolta verso l'esterno e quella idrofoba verso l'interno. A seconda delle tecniche si possono realizzare vescicole uni- o multilamellari. I farmaci possono essere incorporati nei l. con metodi diversi come l'incapsulamento, l'adsorbimento o il legame chimico. Oltre ai fosfolipidi, i l. possono contenere altre sostanze che ne modificano in parte le caratteristiche, per es. il colesterolo che ne migliora la stabilità *in vitro* e *in vivo* o altri composti che conferiscono una carica elettrica negativa o positiva.

L'incorporazione dei farmaci e di altre sostanze dentro i l. migliora l'effetto terapeutico e riduce la tossicità, aumentando, in conclusione, il loro indice terapeutico. Come accennato i due settori che sono stati sinora più ampiamente studiati sono quelli degli antiblastici e degli immunostimolanti.

Per quanto riguarda i secondi, l'incorporazione di linfochine, lipide A, lipopolisaccaride e di muramildipeptide nei l. fa sì che i farmaci giungano elettivamente all'interno dei macrofagi e questo consente di aumentarne il dosaggio senza incrementarne la tossicità. Si pensa che i farmaci liberati dai l. agiscano localmente, modificando in qualche modo l'attività cellulare, non solo quella delle cellule che li catturano ma anche, ad es., quella delle cellule NK, forse mediante la liberazione di mediatori chimici da parte dei macrofagi. I l. migliorano anche l'effetto immunogeno di preparati come anatossine, antigeni virali e vaccini, ad es. di quello antimalarico. Gran parte di queste indagini, in ogni caso, sono ancora in fase sperimentale.

Per quanto riguarda gli antiblastici, indagini cliniche hanno dimostrato che una quota di adriamicina veicolata con i l., in aggiunta a quella somministrata liberamente, permette di aumentare la dose del farmaco riducendo nel contempo la cardiotossicità dell'86% e altri effetti collaterali, come nausea e alopecia. Allo scopo di aumentare le probabilità di cattura dei l. da parte delle cellule tumorali, sono state proposte di recente modifiche strutturali dei l. come la copertura con sostanze surfattanti o l'alterazione della loro composizione lipidica, o l'inserimento di particelle magnetiche sul loro rivestimento così che i l. possano essere guidati verso gli organi bersaglio grazie a un campo magnetico esterno. Sempre in campo oncologico, è stato





Digitized by Google

visto che la somministrazione di anfotericina B mediante l., invece che come farmaco libero, è più efficace nella cura delle infezioni fungine dei pazienti con neoplasie.

È ancora troppo presto per pronunciarsi sulla reale utilità dei l. come veicolo di sostanze biologicamente attive, sebbene alcune indagini appaiano, fin d'ora, di grande interesse.

Su un versante completamente diverso, in biologia cellulare, i l. si sono rivelati di grande interesse e utilità nello studio delle pompe proteiche di membrana, in particolare della pompa del sodio. In questo ambito i l. costituiscono un buon modello sperimentale per indirizzare i diversi componenti della pompa stessa, e i suoi rapporti con altri elementi di membrana. È stato visto, per es., che la velocità di pompaggio del sodio dipende dalla lunghezza della catena acilica della fosfatilcolina usata per costruire i l.

**Bibliografia**

Langer R., *Science*, 1990, **249**, 1527-1533.
Swenson C. E., Popescu M. C., Ginsberg R. S., *CRC Crit. Rev. Microbiol.*, 1988, **15**, Suppl. 1, S1-S31.

STEFANO CAGLIANO

**LIPOSSIGENASI**: v. PROSTAGLANDINE (XII. 1157).

## LIPOSUZIONE

I. *liposuction*. - F. *lipoaspiration*. - T. *Lipexeresis*. - S. *liposucción*.

### Definizione e indicazioni

La liposuzione, o lipoaspirazione, è un procedimento chirurgico utilizzabile per l'asportazione di accumuli adiposi localizzati nel sottocutaneo, in particolare quelli della regione trocanterica, dei fianchi, delle cosce, del ginocchio, dei polpacci, delle caviglie, dei quadranti inferiori e superiori dell'addome, nonché quelli responsabili delle ginecomastie false, del doppio mento, ecc.

Nel porre l'indicazione all'intervento, che ha essenzialmente scopo estetico, si deve tener presente che esso non costituisce una cura dimagrante per obesi, ma si rende utile per la rimozione di masse adipose che alterano la sagoma corporea (*body sculpturing* o liposcultura) (figg. 1 e 2), eventualmente come conseguenza di traumi (fig. 3). Essa può essere utilizzata come misura complementare negli interventi di rimodellamento corporeo, come ad es. nella lipectomia addominale o nel *lifting* del volto (fig. 4).

In chirurgia ricostruttiva, la l. si può utilizzare per diminuire lo spessore di lembi cutanei peduncolati già ruotati a riparare perdite di sostanza.

Con la l. si rimuovono lobuli adiposi che non possono più riformarsi nell'adulto; il rimodellamento che se ne ottiene è quindi permanente. È di fondamentale importanza quindi valutare, prima di una lipoaspirazione, l'elasticità della cute in corrispondenza della zona da trattare. Una cute poco elastica o addirittura flaccida costituisce infatti una controindicazione, non potendo essa ridistendersi adeguatamente su un distretto corporeo di minor volume. Altre controindicazioni sono, più in generale, malattie emorragiche, anemie, ipertensione, diabete, iperazotemia, epatopatie, cardiopatie, trombofilia, ecc.

### Modalità generali dell'intervento

La l. viene effettuata mediante una cannula rigida che, introdotta nel sottocutaneo e opportunamente manovrata, rimuove per aspirazione il tessuto adiposo in eccesso.

L'attrezzatura si compone di un apparecchio elettromeccanico (lipoaspiratore), in grado di creare una depressione più vicina possibile a 1 bar in un serbatoio trasparente (vetro o plastica). Da esso si diparte un lungo tubo flessibile sterile, che giunge fino al tavolo operatorio e alla cannula di lipoaspirazione. Quest'ultima è di metallo o di plastica rigida e presenta una impugnatura e una punta smussa, con feritoie di aspirazione vicine all'apice. Le cannule sono di lunghezza e calibro graduati a seconda della regione corporea da trattare (le fessure variano proporzionalmente). La forma della cannula ha subito nel tempo notevoli miglioramenti: da quelle a bordo tagliente, usate inizialmente, si è passati a quelle attuali a punta smussa, con apertura laterale unica o multipla, che causano minor trauma ai setti connettivali e ai vasi, con minor rischio di ematomi.

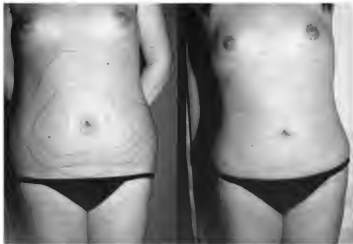



Fig. 1. *A sinistra*: adiposità localizzata sull'addome e sui fianchi: preoperatoriamente si disegnano con inchiostro le regioni dove effettuare la lipoaspirazione. *A destra*: quadro postoperatorio a 30 giorni dall'intervento. I fori d'accesso per la lipoaspirazione sono stati praticati in sede sovrapubica e nella plica ombelicale. Sulla cute sono visibili i segni lasciati dalla guaina elastica compressiva ancora indossata, ma temporaneamente, dalla paziente.

Digitized by Google

Fig. 2. *A sinistra*: marcata adiposità dei fianchi, della regione trocanterica, delle cosce e del ginocchio. *A destra*: quadro postoperatorio a 60 giorni dall'intervento. La marcata riduzione della lipodistrofia ha riequilibrato le proporzioni tra bacino e giro vita rispetto a quelle preoperatorie.

Fig. 3. *A sinistra*: irregolarità del tessuto adiposo in corrispondenza di cicatrice chirurgica da pregresso trauma in regione trocanterica destra. *A destra*: quadro postoperatorio a 60 giorni dall'intervento. Rimodellamento ottenuto mediante lipoaspirazione.

Durante l'intervento, introdotta la cannula nel sottocutaneo, le viene impresso un movimento di va e vieni, in modo da distaccare i lobuli adiposi, che vengono aspirati nella bottiglia del liposuttore, lasciando ogni volta un tunnel nel sottocutaneo. La pressione negativa necessaria alla l. è inversamente proporzionale al diametro della cannula e delle sue fessure, dovendo vincere la resistenza dei lobuli adiposi a staccarsi dal tessuto circostante.

Per il trattamento di un eccesso distrettuale di adipe possono essere effettuati più tunnel, disposti parallelamente, oppure radiati a ventaglio, o incrociantisi tra loro a griglia su piani differenti. La molteplicità dei tunnel e la loro profondità permettono di modificare efficacemente il profilo corporeo, evitando irregolarità superficiali. Ciò si ottiene «sfumando» perifericamente l'aspirazione, in modo da ridurre il sottocutaneo in misura decrescente. L'impiego di cannule di calibro minore e più efficaci ha migliorato i risultati, consentendo di effettuare tunnel su differenti piani e riducendo le irregolarità da tessuto cicatriziale. Le incisioni necessarie per introdurre la cannula sono di piccole dimensioni (1 cm o meno) e possono essere praticate a distanza, in corrispondenza di pieghe cutanee. Durante una lipectomia addominale o un *face lifting*, la cannula viene introdotta nel sottocutaneo tramite la stessa breccia chirurgica. A seconda dei casi, nel periodo postoperatorio può essere fatta indossare al paziente una guaina elastica modellante la regione trattata.

In una seduta di l., si può asportare una quantità di tessuto adiposo variabile a seconda della tecnica adottata e del sanguinamento intraoperatorio. Un'eccessiva lipoaspirazione può comportare un'ipotensione (fino a uno shock ipovolemico in casi estremi) e la convalescenza ne può ri-





Digitized by Google

Fig. 4. *A sinistra:* adiposità della regione sottomentoniera in paziente con ipoplasia del mento e gibbo nasale. *A destra:* quadro postoperatorio a 30 giorni dall'intervento. Insieme alla rinoplastica e alla mentoplastica additiva, alla paziente è stata effettuata una lipoaspirazione della regione sottomentoniera per una completa correzione del profilo.

sultare protratta e caratterizzata da profonda astenia. Trascorsi alcuni mesi si può ripetere l'intervento, asportando un'ulteriore quantità di tessuto adiposo nel medesimo distretto o in altri.

**Varianti tecniche**

Sul piano tecnico, l'intervento di l. ha subito, nel tempo, un'evoluzione attraverso tre successive varianti.

La *tecnica della curette* (Kesserling, 1978), che è stata fra le prime apparse in letteratura, è oggi in disuso; essa creava ampie cavità nel sottocutaneo, introducendo una cannula tagliente connessa con un aspiratore, con l'apertura rivolta verso il tessuto adiposo da rimuovere. Erano frequenti i sieromi e gli ematomi, che spesso esitavano in rilevanti irregolarità fibrotiche.

La *tecnica della tunnellizzazione* costituisce un progresso rispetto alla precedente. In pratica, l'intervento viene effettuato con cannule smusse tramite due o più vie d'accesso, realizzando una serie di tunnel incrociantisi perpendicolarmente gli uni con gli altri: si riduce così notevolmente il rischio di irregolarità ed ematomi (Illouz, 1980). Attualmente essa viene eseguita con o senza infiltrazioni locoregionali di liquidi (v. sotto).

La *tecnica con infiltrazione* (Illouz, 1980) si avvale della previa iniezione di liquidi nel tessuto da asportare (soluzioni ipotoniche, ialuronidasi, vasocostrittori, anestetici). La soluzione ipotonica favorisce la lisi degli adipociti (lipolisi), la ialuronidasi ne promuove la diffusione nel tessuto; entrambe facilitano la rimozione dell'adipe. Alcuni AA., al fine di ridurre il sanguinamento intraoperatorio, infiltrano localmente il tessuto con soluzione fisiologica fredda (a 2 °C). Questo procedimento viene criticato per il rischio che l'infiltrazione possa provocare un alterato profilo della zona da trattare, con conseguente difficoltà di quantizzare i volumi da estrarre.

Nella *tecnica senza infiltrazione* (tecnica asciutta), la l. viene effettuata in anestesia generale o epidurale, ma senza alcuna infiltrazione locale. Essa presenta il vantaggio di non alterare la forma della tumefazione, anche se ha lo svantaggio di non trattare preventivamente il tessuto e, quindi, di presentare un maggior rischio di sieromi ed ematomi (Fournier e Otteni, 1983).

**Complicanze**

Le complicanze della l. possono essere immediate o a distanza. Le prime variano dall'infezione allo shock ipovolemico, all'embolia polmonare (eccezionali). A seconda della sede si possono inoltre verificare, se la tecnica d'intervento non è corretta, lesioni di vasi o di nervi, perforazione della muscolatura addominale e addirittura dell'intestino, specie in presenza di laparoceli ed ernie.

Le più frequenti complicanze a distanza sono le irregolarità cutanee e le asimmetrie da asportazione disomogenea di tessuto adiposo, nonché l'iperpigmentazione della cute (da emosiderina), per riassorbimento di vaste ecchimosi.

**Bibliografia**

Fournier P. F., Otteni F. M., *Plast. Reconstr. Surg.*, 1983, **72**, 598.
Illouz Y. G., *Rev. Chir. Esth. Langue Fr.*, 1980, **6** (19), 3.
Kesserling U. K., *Plast. Reconstr. Surg.*, 1978, **62**, 305.

ROBERTO BRACAGLIA

## LIQUOR [v. vol. VIII, col. 2168]

SOMMARIO



**Premessa**

In questi ultimi dieci anni sono state messe a punto nuove tecniche di analisi delle proteine, tecniche che hanno trovato applicazione anche nello studio della composizione proteica del liquor normale e patologico. Sono state altresì identificate nuove malattie infettive del S.N.C., tuttora oggetto di molti studi, in particolare la neuroborreliosi (v. LYME, MALATTIA DI*), dovuta alla spirocheta *Borrelia burgdorferi*, l'infezione da parte dell'HIV, dovuta alla pre-



Digitized by Google

senza precoce e frequente del virus nel sistema nervoso, la paraparesi spastica tropicale, legata a un'infezione cronica da virus HTLV-I (virus della leucemia umana a cellule T).

**Proteine liquorali di origine plasmatica**

La *prealbumina*, chiamata attualmente *transtiretina*, ha nel l. lombare una concentrazione 12 volte superiore a quella del siero. Sappiamo oggi che essa ha una duplice origine, una sierica, dovuta alla sintesi epatica e alla diffusione passiva attraverso la barriera ematomeningea, in funzione del suo peso molecolare e delle sue dimensioni, l'altra corioidea, per sintesi locale a livello delle cellule epiteliali dei plessi corioidei e diffusione diretta nel l. (Aleshire *et al.*, 1983; Dickson *et al.*, 1985; Herbert *et al.*, 1986). Per quanto riguarda il S.N.C. dei mammiferi, la transtiretina è la prima proteina che sappiamo essere sintetizzata solo dai plessi corioidei. Non è ancora noto se la sua funzione nel l. differisca da quelle espletate nel plasma, se si tratti cioè di una proteina di trasporto (sia della Vit. A, o retinolo, per cui è nota anche come *proteina legante il retinolo*, sia della tiroxina).

La *transferrina* (v. TRANSFERRINA, XV, 220) ha la particolarità di avere una doppia mobilità elettroforetica nel l.; è presente anche una seconda transferrina, con carica elettrica negativa più elevata per la perdita di 4 residui di ac. sialico. Tale perdita è dovuta all'attività di una neuroaminidasi non localizzata nel l., ma la cui origine potrebbe essere cerebrale (Gallo *et al.*, 1985). L'identificazione di questa seconda transferrina si è rivelata il metodo più sensibile e affidabile per dimostrare la presenza di l. in caso di rinorrea od otorrea. Tale identificazione, possibile con la tecnica dell'*immunoblotting*, richiede solo 3 μl del campione in esame (fig. 1).

Le *proteine del complemento* sono state oggetto, recentemente, di numerosi studi centrati, in particolare, sulla identificazione dei peptidi prodotti al momento della loro attivazione. È così che il fattore C1q, la cui concentrazione nel l. normale è di 0,48 mg/l (Dujardin *et al.*, 1985), può aumentare per sintesi locale dovuta all'attivazione dei macrofagi (Schuller e Helary, 1983). Le variazioni di concentrazione del fattore C3 hanno dato luogo a risultati contraddittori nella sclerosi a placche. Alcuni AA. hanno trovato valori immutati rispetto al gruppo di controllo (valori di riferimento di 3,03 mg/l secondo Dujardin *et al.*), altri, invece, valori inferiori, che indicherebbero un consumo locale dovuto a immunocomplessi. Senz'altro più interessante è la quantificazione del frammento C3a, frammento proteolitico di C3 dovuto alla sua attivazione, la cui concentrazione è decuplicata durante i primi giorni d'insorgenza della sindrome di Guillain-Barré (in media 118 ng/ml, quando il valore di riferimento nel gruppo di controllo è di 17 ng/ml) (Hartung *et al.*, 1987). Gli stessi AA. hanno rilevato un aumento analogo del frammento C5a, quando la concentrazione plasmatica degli stessi peptidi C3a e C5a resta invariata. Una tale attivazione del fattore C3 è stata identificata anche in caso di neuro-Behçet (Aoyama *et al.*, 1979). Il fattore C4 (valore medio di riferimento di 1,41 mg/l secondo Dujardin *et al.*) era significativamente aumentato nella maggior parte dei pazienti con HIV, proprio quando il fattore C3 risultava diminuito, verosimilmente per consumo locale.

La tappa finale dell'attivazione del complemento implica la scissione di C5 in C5a e C5b e la formazione del complesso C5b-C6-C7-C8-C9, detto anche *complesso d'attacco di membrana*. Questo nuovo complesso induce la formazione di neoantigeni, in particolare su C9, non presenti sulla proteina originaria. In questo modo si può individuare quantitativamente la comparsa di questi complessi d'attacco membranosi con anticorpi diretti contro i neoantigeni di C9. Questi complessi sono presenti nel l. di 13 su 14 pazienti con sindrome di Guillain-Barré acuta, e nell'80% dei pazienti con sclerosi multipla (Sanders *et al.*, 1986). Parallelamente, la proteina originaria C9 è diminuita nel l. di pazienti colpiti da malattia demielinizzante per consumo locale (Morgan *et al.*, 1984; Compston *et al.*, 1986). Questi dati dimostrano in modo chiaro un'attivazione del complemento nel l. in caso di sindrome di Guillain-Barré e di sclerosi multipla.

Le *IgA* si trovano sotto diverse forme molecolari. I monomeri di IgA sono presenti soprattutto nel siero (87%) mentre i polimeri predominano nelle secrezioni esterne. È stato dimostrato di recente che le IgA presenti nel l. normale si trovano essenzialmente sotto forma di monomeri (> 95%), ma che in caso di sintesi intratecale la propor-

Fig. 1. Identificazione della seconda transferrina («Tf lenta», o *Slow* Tf) nel l. normale, nel liquido prelevato da una cisti siringomielica e nelle secrezioni nasali, e assente nel siero normale. I campioni (da 1-3 μl) vengono dapprima sottoposti a elettroforesi su gel d'agaroso, poi la transferrina contenuta in essi viene trasferita per immunoaffinità su un foglio di nitrocellulosa coperto di anticorpi anti-transferrina per semplice pressione (*blotting* per capillarità). La transferrina, infine, viene identificata mediante un secondo antisiero specifico marcato con perossidasi. Questo metodo dimostra la presenza di l. nelle secrezioni nasali in caso di rinorrea.

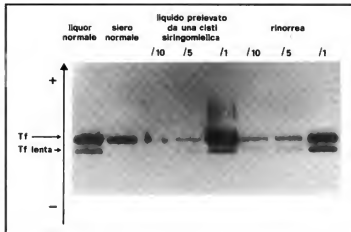
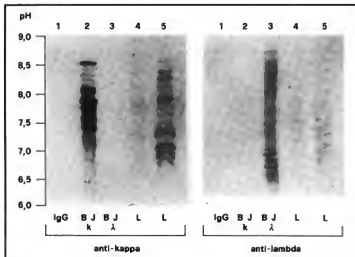



Fig. 2. Dimostrazione della presenza di catene leggere libere kappa e lambda nel l. (L) di due pazienti con sclerosi a placche. Non è stata osservata nessuna reazione né con il deposito di 250 ng di IgG, né con le proteine di Bence Jones (B J) di altro tipo rispetto a quello analizzato. Dopo *isoelectrofocusing* su gel d'agaroso, le catene leggere libere vengono trasferite su un foglio di nitrocellulosa coperto dagli anticorpi corrispondenti e sono identificate da un secondo antisiero marcato con perossidasi.

zione di dimeri di IgA aumenta in modo significativo e può anche superare quella del siero (Sindic *et al.*, 1984b). Per contro, le proporzioni relative delle sottoclassi IgA1 e IgA2 restano immutate e le prime costituiscono l'80% delle IgA totali. La sintesi intratecale di IgA si osserva in caso di malattie infettive, come le meningiti batteriche (Felgenhauer, 1982), l'encefalite erpetica, la meningite tubercolare, ma anche in una piccola percentuale di casi di sclerosi a placche (Sindic *et al.*, 1987a).

Le *IgE* non sono praticamente mai identificabili nel l. normale o patologico, malgrado l'uso di tecniche ultrasensibili di dosaggio (soglia d'identificazione 0,2 U.I./ml) (Sindic *et al.*, 1984a). I valori più elevati (30 U.I./ml) riferiti in precedenza erano il risultato di artefatti tecnici.

La presenza di *catene leggere* libere *kappa* e *lambda* è stata oggetto di studi recenti, sia qualitativi, mediante immunofissazione o *immunoblotting* (Vakaet e Thompson, 1985; Bracco, 1987), sia quantitativi, mediante dosaggio radioimmunologico (Rudick *et al.*, 1986), ELISA (Lolli e Amaducci, 1989) o mediante conteggio delle particelle (Fagnart *et al.*, 1988). Nel l. normale possono essere identificate catene leggere lambda (concentrazione media 120 ng/ml; DS:60), ma non catene leggere libere kappa (soglia d'identificazione 25 ng/ml). Nelle malattie infettive e infiammatorie del sistema nervoso sono state osservate concentrazioni elevate dei due tipi di catene leggere, risultato sia di un aumentato passaggio attraverso la barriera ematomeningea alterata, sia di una sintesi locale. Il calcolo di un indice simile all'indice IgG ha permesso di precisare la frequenza della sintesi intratecale di queste catene leggere libere che arriva all'86% in caso di sclerosi multipla (Fagnart *et al.*, 1988). Anche le tecniche qualitative (fig. 2) hanno dimostrato la presenza di bande costituite da catene leggere libere nel l., ma non nel siero corrispondente, fatto questo che prova la loro sintesi intratecale. Resta ancora da chiarire il significato di queste catene leggere libere.

La *ferritina* è la principale proteina d'immagazzinamento del ferro. La sua concentrazione nel l. normale è inferiore a 10 ng/ml (Sindic *et al.*, 1981). La sua sintesi è indotta dalla presenza di ferro libero, come accade in caso di riassorbimento dell'emoglobina dopo un'emorragia, oppure di necrosi tessutale. I macrofagi sono responsabili di gran parte di questa sintesi. La concentrazione di ferritina nel l. patologico può essere moltiplicata di un fattore variabile da 10 a 100 ed essere superiore a quella del siero (fatto questo che prova una sintesi locale) in caso di emorragia cerebrale e/o meningea, di encefalite erpetica e d'infezioni batteriche del sistema nervoso (Sindic *et al.*, 1981; 1985).

**Microglobuline**

La microproteina alcalina γ-traccia o post-γ è stata analizzata dal punto di vista della sequenza aminoacidica (120 residui; p. m.: 13.260) (Grubb e Löfberg, 1982) e conosciamo attualmente la sua funzione. Si tratta di un potente inibitore delle proteasi cisteiniche lisosomali, in particolare della catepsina B, da cui il suo nome di *cistatina C* (Barret *et al.*, 1984). È stata identificata in alcuni neuroni corticali, ma anche in alcune cellule ipofisarie, pancreatiche, della midollare dei surreni, così come nelle cellule della linea monocito-macrofagica. L'angiopatia amiloide ereditaria osservata in Islanda, responsabile di ripetute emorragie cerebrali, spesso mortali, è dovuta a una mutazione del gene di questa proteina. Il cambiamento della sequenza aminoacidica che ne risulta provoca la precipitazione della proteina sotto forma di depositi amiloidi localizzati preferibilmente nella parete dei vasi cerebrali (Jensson *et al.*, 1987; Palsdottir *et al.*, 1988; Levy *et al.*, 1989).

**Proteine liquorali di origine cerebrale**

Alcune proteine specifiche di diverse cellule e strutture del S.N.C. (neuroni, cellule gliali, mielina) potrebbero essere liberate nell'ambiente interstiziale cerebrale e, per diffusione, nel l. in conseguenza del loro *turnover* fisiologico, ma anche in seguito a lesioni cerebrali più o meno estese e specifiche. Il dosaggio liquorale di queste proteine potrebbe fornire perciò un indice biologico della distruzione del tessuto nervoso.

Tale approccio è stato tentato in particolare nelle malat-





Digitized by Google

tie demielinizzanti, mediante il dosaggio nel l. della proteina basica della mielina (PBM), della proteina proteolipidica (PPL) e della glicoproteina associata alla mielina (GAM). Altre proteine, sia di origine astrocitaria (S-100, proteina acida gliofibrillare o GFA, isoenzima BB della creatinchinasi, o CK-BB) che neuronale (enolasi specifica neuronale, o ESN) sono state oggetto di studi analoghi.

La PBM è rilasciata nel l. sotto forma di frammenti peptidici in caso di evolutività di una sclerosi multipla (Gupta *et al.*, 1988). L'epitopo dominante che dev'essere riconosciuto dall'antisiero usato nel sistema di dosaggio è localizzato sul peptide 45-89 della PBM. Il dosaggio quantitativo di questo peptide è più sensibile, pur rimanendo altrettanto specifico quanto il dosaggio della PBM intatta nella sclerosi multipla (Gupta *et al.*, 1988).

La PPL, malgrado la sua relativa insolubilità, può essere identificata e dosata nel l. mediante il dosaggio radioimmunologico (Trotter *et al.*, 1983). Le concentrazioni liquorali aumentano nelle malattie demielinizzanti, nelle encefaliti e in caso di accidente cerebrovascolare.

Il dosaggio del GAM nel l. si è rivelato invece un po' meno interessante sul piano clinico. Infatti, le concentrazioni del GAM variano da 2 a 13 ng/ml in soggetti volontari sani, senza incrementi significativi nei pazienti colpiti da malattie demielinizzanti (Yanagisawa *et al.*, 1985).

Il dosaggio liquorale delle proteine d'origine essenzialmente astrocitaria, la S-100, la GFA e la CK-BB è stato oggetto di numerosi lavori recenti (Sindic *et al.*, 1982-1986). Concentrazioni elevate (maggiori di 3 ng/ml per la S-100, maggiori di 1 ng/ml per la GFA) sono state osservate in caso di coma postraumatici e anossici, nelle contusioni emorragiche, nelle encefaliti, in particolare in quelle erpetiche, in caso di *ictus* e in altri ancora. Nella nostra esperienza, il dosaggio della proteina S-100 è più sensibile di quello della GFA, cosa verosimilmente da attribuire alla sua maggiore solubilità e alle sue più piccole dimensioni che ne permettono una migliore diffusione. La concentrazione di S-100 è sempre alta nella malattia di Jakob-Creutzfeldt, ma non lo è mai nella malattia di Alzheimer. Per il dosaggio della CK-BB sono stati usati il più delle volte metodi enzimatici, con il rischio quindi di alterazioni dovute alla presenza d'inibitori. L'attività CK totale non permette di distinguere gli isoenzimi cerebrali (BB), da una parte, da quelli muscolari (MM) e miocardici (MB), dall'altra, che possono attraversare la barriera ematoencefalica, soprattutto in caso di contusioni emorragiche traumatiche. Occorre pertanto una separazione elettroforetica iniziale di questi isoenzimi, insieme a un'immunoinibizione (Chandler *et al.*, 1984).

Il dosaggio della ESN (sotto forma di unità γ) ha mostrato concentrazioni elevate in malattie come encefalite erpetica, corea di Huntington, metastasi tumorali (Royds *et al.*, 1983), così come nei traumi cranici (Dauberschmidt *et al.*, 1983).

**Esame microbiologico**

In questi ultimi anni sono state individuate tre nuove malattie infettive del S.N.C. e il loro relativo agente causale può essere isolato dal l.

L'infezione da *Borrelia burgdorferi*, trasmessa essenzialmente dalla puntura delle zecche, è associata di frequente a un danno neurologico, sia nello stadio secondario della malattia, sotto forma di meningoradicolite, sia più raramente nello stadio terziario, sotto forma di encefalomielite cronica (Steere *et al.*, 1983) (v. LYME, MALATTIA DI*). In rari casi la spirocheta è stata isolata e coltivata a partire dal l. di pazienti infettati, mediante coltura in ambienti particolari (Steere *et al.*, 1984; Pfister *et al.*, 1984).

Il *virus HIV* sembra penetrare molto precocemente nel S.N.C. e persistervi in maniera cronica e latente, come dimostra il suo isolamento a partire da cellule liquorali e anche, in certi casi, dal sovranatante acellulare (Ho *et al.*, 1985; Hollander e Levy, 1987; Chiodi *et al.*, 1988). L'HIV può essere isolato nel l. stesso in pazienti asintomatici (stadio II) e in certi casi al momento della sieroconversione.

Un altro retrovirus, l'*HTLV-I* è stato riconosciuto come l'agente causale della paraparesi spastica tropicale e delle mielopatie croniche osservate in Giappone. Questo virus è stato effettivamente isolato a partire da linee cellulari provenienti dal l., per ibridazione *in situ*, co-coltivazione o identificazione di antigeni virali (Jacobson *et al.*, 1988; Bhagavati *et al.*, 1988).

**Anticorpi liquorali**

Lo sviluppo di tecniche molto sensibili, come quelle ELISA, permette l'identificazione di anticorpi antivirali, antibatterici, antiparassitari nel l., anche in quello normale. Il problema fondamentale in questi casi è riuscire a distinguere tra un passaggio passivo di questi anticorpi dal sangue verso il l. e una sintesi locale degli stessi in risposta alla presenza nel cervello dell'agente infettivo specifico. Una difficoltà supplementare deriva dalla possibile sintesi intratecale di anticorpi, dovuta a una stimolazione non specifica delle cellule B di memoria che si trovano nel S.N.C., in concomitanza con una stimolazione immunitaria specifica (per es. produzione intratecale di anticorpi antierpetici in caso di meningite da virus parotitico) (Vandvik *et al.*, 1982) oppure di origine sconosciuta (produzione intratecale di anticorpi antimorbillo nella sclerosi multipla).

Per distinguere tra passaggio passivo e sintesi locale molti AA. utilizzano un indice ricavato dall'indice IgG, corrispondente al rapporto tra la concentrazione degli anticorpi nel l. e quella nel siero (ottenuta mediante ELISA, immunofluoresenza o altre tecniche) diviso per il rapporto tra tasso di albumina liquorale e sierica. Si può anche procedere a un confronto diretto degli anticorpi nel l. e nei sieri corrispondenti, esprimendo quest'attività come microgrammi di IgG. È con metodi di calcolo del genere che si è potuto dimostrare una sintesi intratecale di anticorpi antiborrelia (Stjernstedt *et al.*, 1985) e anti-HIV (Resnick *et al.*, 1985; Ackermann *et al.*, 1986) in caso di neuroborreliosi e, rispettivamente, di AIDS del sistema nervoso. Occorre insistere sul fatto che in caso d'infezione da HIV, una sintesi intratecale di anticorpi specifici può essere identificata in circa la metà dei pazienti positivi asintomatici (stadio II della malattia) e che il 40% di questi sieropositivi senza immunodeficienza presenta anche una discreta pleiocitosi e/o una leggera iperproteinorrachia (Appleman *et al.*, 1988).

Un altro approccio allo studio degli anticorpi è l'uso di tecniche di *immunoblotting* del quale vanno distinte due varianti.

Nella tecnica classica del *Western blot* (Towbin *et al.*, 1979), gli antigeni vengono separati su gel di poliacrilammide, poi trasferiti su un foglio di nitrocellulosa; questo ultimo viene quindi lasciato incubare e gli anticorpi presenti sono rivelati da un anticorpo marcato, più spesso con perossidasi o fosfatasi alcalina. Questa tecnica molto sensibile permette di identificare gli anticorpi contro un antigene specifico dell'agente infettivo studiato, ma non permette di distinguere, per quanto concerne il l., l'origine plasmatica o intratecale degli anticorpi individuati.

Una tecnica diversa è quella di *blotting* per capillarità, che permette un passaggio per immunoaffinità di anticorpi, isolati in precedenza mediante *isoelettrofocusing* su gel di agaroso, su un foglio di nitrocellulosa impregnato dall'an-



Digitized by Google

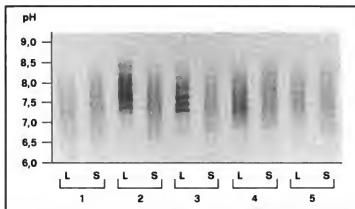



Fig. 3. Identificazione di bande oligoclonali IgG specifiche del l. (campioni 2 e 3) mediante *immunoblotting*. Dopo diluizione, 10 µl dei campioni del l. (L) e del siero (S), a una concentrazione uniforme di IgG di 5 µg/ml, dato un valore assoluto di 50 ng di IgG, vengono sottoposti a *isoelectrofocusing* su gel d'agaroso. Le IgG vengono poi trasferite per immunoaffinità su un foglio di nitrocellulosa coperto di anticorpi anti-IgG e vengono rivelati grazie a un secondo antisiero marcato con perossidasi.

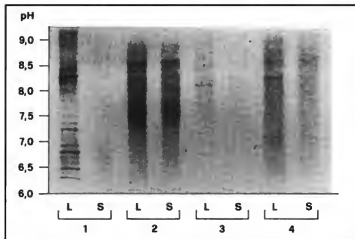



Fig. 4. Identificazione di sintesi intratecale di anticorpi anti-HIV per *immunoblotting*. I campioni (l. non concentrato e siero corrispondente diluito alla stessa concentrazione di IgG del l.) vengono posti l'uno accanto all'altro su gel d'agaroso e sottoposti a *isoelectrofocusing*. In seguito, un foglio di nitrocellulosa coperto di antigeni solubili HIV provenienti dal sovrastante delle cellule infette viene applicato direttamente sul gel, dove sono trasferiti gli anticorpi specifici. Questi vengono identificati da un antisiero anti-IgG umane marcato con perossidasi. Si osserva sintesi intratecale di IgG nei campioni 1, 3 e 4 mentre un'immagine speculare del campione 2 (anticorpi oligoclonali IgG identici nei due ambienti) testimonia un passaggio passivo dal siero verso il l.

tigene studiato (Dorries e Ter Meulen, 1984; Bukasa *et al.*, 1988a, 1988b). Gli anticorpi trasferiti sono dimostrabili mediante un antisiero marcato con perossidasi. Allorché il l. e il siero corrispondente vengono analizzati simultaneamente, dopo aver dosato la loro concentrazione di IgG, gli *immunoblot* ottenuti possono essere direttamente confrontati e la presenza di una reazione più importante nel l. con un *pattern* oligoclonale e/o policlonale dimostra la sintesi intratecale degli anticorpi studiati. L'insieme delle IgG del l. e del siero può essere identificato mediante *immunotransfer* su un foglio di nitrocellulosa coperto di anticorpi anti-IgG, sottoponendo ad *isoelectrofocusing* solo 50 ng del valore assoluto di IgG; si può anche visualizzare un aspetto oligoclonale delle IgG specifiche del l. anche quando l'elettroforesi su gel di agaroso è normale (fig. 3). Questa tecnica è stata usata per identificare una sintesi intratecale di anticorpi oligoclonali o policlonali diretti contro il virus del morbillo, dell'*herpes simplex* e dell'*herpes zoster*, dell'HIV (fig. 4) così come contro *Brucella abortus*, *Borrelia burgdorferi* e *Mycobacterium tuberculosis* (Sindie *et al.*, 1987b; Depré *et al.*, 1988; Bukasa *et al.*, 1988 a, b).

**Citochine liquorali**

La presenza di citochine nel l. normale e patologico viene oggi studiata ampiamente nella speranza di poter comprendere meglio i meccanismi immunitari implicati nelle infezioni del S.N.C. e nelle malattie demielinizzanti. Alcune di queste citochine non provengono solo dalle cellule del sistema immunitario, in particolare linfociti T e macrofagi, ma possono essere anche secrete dagli astrociti e dalla microglia (Frei *et al.*, 1989).

L'*interleuchina 1* (IL-1) esiste sotto due diverse forme molecolari, *alfa* e *beta*. Questa ultima è stata di recente

Digitized by Google

individuata mediante dosaggio immunoenzimatico nel l. di pazienti con infezione da HIV, con o senza sintomi neurologici (Gallo *et al.*, 1989).

L'*interleuchina 2* (IL-2), secreta dai linfociti T attivati, è stata individuata da Gallo *et al.* (1988) nel l. di certi pazienti colpiti da sclerosi a placche, ma non in pazienti con infezioni da HIV (Gallo *et al.*, 1989a). Il recettore specifico della molecola, situato sui linfociti T e B può essere rilasciato in forma solubile in caso di attivazione. È stato individuato nel l. anche in caso di encefalite erpetica, ma non in caso di quella perivenosa post-morbillosa, né in caso di panencefalite sclerosante subacuta (Boutin *et al.*, 1987), e nei pazienti con infezione da HIV (Gallo *et al.*, 1989b).

L'*interleuchina 6* (IL-6), detta anche BSF-2 (*B cell Stimulatory Factor 2*), o *interferone beta*$_2$, è stata identificata nel l. in caso d'infezione acuta del S.N.C., ma non in caso d'infezione cronica (Houssiau *et al.*, 1988; Frei *et al.*, 1988). Le concentrazioni più elevate sono state osservate durante i primi 5-10 giorni di meningite virale o batterica o in caso di encefalite erpetica; erano superiori a quelle osservate nel siero e dunque non potevano risultare che da una sintesi intratecale. L'IL-6 è stata identificata anche nei pazienti con infezione da HIV, con o senza infezioni opportunistiche cerebrali (Gallo *et al.*, 1989).

Il *fattore di necrosi tumorale alfa* (TNF *alfa*, detto anche *cachessina*) è stato riscontrato nel l. in alcuni casi di meningite batterica, ma non in caso di malattie virali o demielinizzanti (Leist *et al.*, 1988; Gallo *et al.*, 1988; 1989), malgrado l'attività demielinizzante e citotossica per l'oligodendrocita esercitata *in vitro* da questa citochina.

Gli *interferoni alfa* e *gamma* sono stati identificati nel l. in particolare in casi di meningiti ed encefaliti virali o batteriche (Dussaix *et al.*, 1985; Abbott *et al.*, 1985; 1987; Ho-Yen e Carrington, 1987). Mancherebbero, al contrario, in caso d'infezioni croniche, come la panencefalite sclerosantes subacuta. Abbiamo dati contraddittori sulla presenza dell'interferone alfa nelle infezioni virali e sulla sua assenza nelle infezioni batteriche (Ho-Yen e Carrington, 1987; Abbott *et al.*, 1987).

**Bibliografia**


Abbott R. J., Bolderson I., Gruer P. J. K., *Lancet*, 1985, **2**, 456.
Abbott R. J., Bolderson I., Gruer P. J. K., *J. Infect.*, 1987, **15**, 153.
Ackermann R., Nekic M., Jürgens R., *J. Neurol.*, 1986, **233**, 140.
Aleshire S. L., Bradley C. A. *et al.*, *J. Histochem. Cytochem.*, 1983, **31**, 608.
Aoyama J., Inaba G., Shimizu T., *J. Neurol. Sci.*, 1979, **41**, 183.
Appleman M. E., Marshall D. W. *et al.*, *J. Infect. Dis.*, 1988, **158**, 193.
Barrett A. J., Davies M. E., Grubb A., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1984, **120**, 631.
Bhagavati S., Ehrlich G. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1988, **318**, 1141.
Boutin B., Matsuguchi L. *et al.*, *Ann. Neurol.*, 1987, **22**, 658.
Bracco F., Gallo P. *et al.*, *J. Neurol.*, 1987, **234**, 303.
Bukasa K. S. S., Sindic C. J. M. *et al.*, *Acta Neurol. Belg.*, 1988a, **88**, 203.
Bukasa K. S. S., Sindic C. J. M. *et al.*, *J. Neurol. Neurosurg. Psych.*, 1988b, **51**, 1063.
Chandler W. L., Clayson K. J. *et al.*, *Clin. Chem.*, 1984, **30**, 1804.
Chiodi F., Albert J. *et al.*, *Aids Res. Hum. Retroviruses*, 1988, **4**, 351.
Compston D. A. S., Morgan B. P. *et al.*, *Neurology*, 1986, **36**, 1503.
Dauberschmidt R., Marangos P. J. *et al.*, *Clin. Chim. Acta*, 1983, **131**, 165.
Depré A., Sindic C. J. M. *et al.*, *Rev. Neurol.*, 1988, **144**, 416.
Dickson P. W., Aldred A. R. *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1985, **127**, 890.
Dujardin B. C. G., Driedijk P. C. *et al.*, *J. Immunol. Meth.*, 1985, **80**, 227.
Dussaix E., Lebon P. *et al.*, *Acta Neurol. Scand.*, 1985, **71**, 504.
Fagnart O. C., Sindic C. J. M., Laterre C., *J. Neuroimmunol.*, 1988, **19**, 119.
Felgenhauer K., *J. Neurol.*, 1982, **228**, 223.
Frei K., Leist T. P. *et al.*, *J. Exp. Med.*, 1988, **168**, 449.
Frei K., Malipiero U. V. *et al.*, *Eur. J. Immunol.*, 1989, **19**, 689.
Gallo P., Bracco F. *et al.*, *J. Neurol. Sci.*, 1985, **70**, 81.
Gallo P., Piccinno M. *et al.*, *Ann. Neurol.*, 1988, **24**, 795.
Gallo P., Piccinno M. G. *et al.*, *J. Neuroimmunol.*, 1989a, **23**, 41.
Gallo P., Frei K. *et al.*, *J. Neuroimmunol.*, 1989b, **23**, 109.
Grubb A., Löfberg H., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1982, **79**, 3024.
Gupta M. K., Whitaker J. N. *et al.*, *Ann. Neurol.*, 1988, **23**, 274.
Hartung H. P., Schwenke Ch. *et al.*, *Neurology*, 1987, **37**, 1006.
Herbert J., Wilcox J. N. *et al.*, *Neurology*, 1986, **36**, 900.
Ho D. D., Rota T. R. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1985, **313**, 1493.
Hollander H., Levy J. A., *Ann. Intern. Med.*, 1987, **106**, 692.
Houssiau F. A., Bukasa K. *et al.*, *Clin. Exp. Immunol.*, 1988, **71**, 320.
Ho-Yen D., Carrington D., *J. Clin. Pathol.*, 1987, **40**, 83.
Jacobson S., Raine C. S. *et al.*, *Nature*, 1988, **331**, 540.
Jensson O., Gudmundsson G. *et al.*, *Acta Neurol. Scand.*, 1987, **76**, 102.
Leist T. P., Frei K. *et al.*, *J. Exp. Med.*, 1988, **167**, 1743.
Levy E., Lopez-Otin C. *et al.*, *J. Exp. Med.*, 1989, **169**, 1771.
Lolli F., Amaducci L., *Clin. Chim. Acta*, 1989, **182**, 229.
Morgan B. P., Campbell A. K., Compston D. A. S., *Lancet*, 1984, **2**, 251.
Palsdottir A., Abrahamson M. *et al.*, *Lancet*, 1988, **2**, 603.
Pfister H. W., Einhäupl K. *et al.*, *J. Neurol.*, 1984, **231**, 141.
Resnick L., DiMarzo-Veronese F. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1985, **313**, 1498.
Royds J. A., Aelwyn G. *et al.*, *J. Neurol. Neurosurg. Psych.*, 1983, **46**, 1031.
Rudick R. A., Pallant A. *et al.*, *Ann. Neurol.*, 1986, **20**, 63.
Sanders M. E., Koski C. L. *et al.*, *J. Immunol.*, 1986, **136**, 4456.
Schuller E., Helary M., *J. Immunol. Meth.*, 1983, **56**, 159.
Sindic C. J. M., Collet-Cassart C. *et al.*, *J. Neurol. Neurosurg. Psych.*, 1981, **44**, 329.
Sindic C. J. M., Chalon M. P. *et al.*, *J. Neurol. Neurosurg. Psych.*, 1982, **45**, 1130.
Sindic C. J. M., Magnusson C. G. M. *et al.*, *J. Neuroimmunol.*, 1984a, **6**, 319.
Sindic C. J. M., Delacroix D. L. *et al.*, *J. Neuroimmunol.*, 1984b, **7**, 65.
Sindic C. J. M., Kevers L. *et al.*, *J. Neurol. Sci.*, 1985, **67**, 359.
Sindic C. J. M., Van de Wyngaert F. *et al.*, in *Les comas*, 1987, Société de Réanimation de Langue Française, Expansion Scientifique Française, Paris, 273.
Sindic C. J. M., Boon L. *et al.*, in Lowenthal A., Raus J. eds., *Cellular and Humoral Immunological Components of Cerebrospinal Fluid in Multiple Sclerosis*, 1987a, Plenum, New York, p. 47.
Sindic C. J. M., Depré A. *et al.*, *J. Neurol. Neurosurg. Psych.*, 1987b, **50**, 1565.
Steere A. C., Pachner A. R., Malawista S. E., *Ann. Intern. Med.*, 1983, **99**, 767.
Steere A. C., Grodzicki R. L. *et al.*, *Yale J. Biol. Med.*, 1984, **57**, 557.
Stjernstedt G. T., Granstroöm M. *et al.*, *J. Clin. Microbiol.*, 1985, **21**, 819.
Towbin H., Staehelin T., Gordon J., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1979, **76**, 4350.
Trotter J. L., Wegescheide C. L., Garvey W. F., *Ann. Neurol.*, 1983, **14**, 554.
Vakaet A., Thompson E. J., *J. Neurol. Neurosurg. Psych.*, 1985, **48**, 995.
Vandvik B. Nilsen R. E. *et al.*, *Acta Neurol. Scand.*, 1982, **65**, 468.
Yanagisawa K., Quarles R. H. *et al.*, *Ann. Neurol.*, 1985, **18**, 464.


CHRISTIAN J. M. SINDIC E CHRISTIAN E. LATERRE

## LISINOPRIL

Inibitore dell'enzima della conversione dell'angiotensina I in angiotensina II (ACE: *Angiotensin Converting Enzyme*) il lisinopril (l.), al pari degli altri ACE-inibitori di seconda generazione (benazepril, cilazapril, delapril, enalapril, quinapril, ramipril, spirapril), si differenzia dal captopril, capostipite della famiglia, per la sostituzione del radicale mercaptoalcanoilico di quest'ultimo con un radicale carbossialcanoilico.

Alla presenza del gruppo SH si erano infatti attribuiti alcuni effetti indesiderati (neutropenia, proteinuria), emersi con particolare evidenza nelle prime fasi di un impiego del captopril che faceva ricorso a dosi inutilmente elevate, ma in realtà successivamente osservati anche con l'uso dei più recenti ACE-inibitori.

Il l. (N.R.: Alapril; Prinivil; Zestril), pur non introducendo elementi francamente innovativi nella famiglia degli ACE-inibitori, presenta utili peculiarità farmacocinetiche e interessanti sfumature farmacodinamiche. Sul piano cinetico il l. risulta attivo come tale (i composti di seconda generazione sopra menzionati agiscono dopo trasformazione nell'organismo in metaboliti attivi); la notevole stabilità del suo legame con l'ACE (4 e 10 volte superiore a quella dell'enalapril e, rispettivamente, del captopril) spiega la lunga durata d'azione del l. che ne assicura l'efficacia anche se somministrato in dose unica giornaliera.

Singolare è la riduzione della gettata cardiaca osservata nei trattamenti a breve termine con l.: essa può riferirsi a inibizione dell'ACE essendo ben documentata l'azione inotropa positiva che l'angiotensina II esercita su preparazioni *in vitro* di miocardio umano. La mancanza di analoghi effetti inotropi negativi da parte degli altri farmaci di questo gruppo implica una certa elettività dell'azione ACE-inibitrice del l. a livello cardiaco, ossia un miocardiotropismo che può solo inquadrarsi nei recenti concetti sulla funzione autocrina/paracrina del sistema renina-angiotensina. L'accertata presenza di questo sistema, oltre che nel rene, nel tessuto miocardico (e in diversi altri tessuti o organi quali le miocellule vasali, il sistema nervoso centrale, la milza, le ghiandole salivari, il fegato) fa ritenere che l'angiotensina II, liberata in queste sedi, eserciti effetti locali sia diretti (funzione autocrina), sia mediati dall'interazione con neurotrasmettitori o autacoidi (funzione paracrina da modulazione degli effetti di catecolamine, di prostaglandine, del fattore natriuretico atriale, dei fattori di crescita di origine endoteliale o piastrinica). Sotto questo aspetto, il miocardiotropismo del l. dà consistenza alla prospettiva che vede nell'inibizione dell'ACE, selettivamente circoscritta a diversi organi o tessuti, l'obiettivo di una futura ricerca in questo settore.

Somministrato *per os* il l. viene assorbito in modo lento e incompleto (biodisponibilità del 25-50%, con picco ematico a 6-8 ore); il prodotto non si lega alle proteine plasmatiche e viene eliminato come tale per via renale con una curva bifasica di decremento dei livelli circolanti (emivita della prima e della seconda componente rispettivamente di 12 e 30 ore). Una stabilizzazione della concentrazione ematica viene raggiunta dopo tre giorni di assunzione di una singola dose giornaliera.

Nella classica indicazione dell'ipertensione arteriosa (v.*) il l., alle dosi di 20-80 mg/*die* riduce la pressione arteriosa per caduta delle resistenze periferiche. Gli effetti emodinamici sono quelli tipici degli ACE-inibitori: assenza di tachicardia (da probabile aumento del tono vagale di origine centrale senza compromissione dei riflessi barorecettoriali); non sostanziali modificazioni del flusso ematico coronarico e cerebrale; aumento del flusso ematico renale con riduzione della frazione di filtrazione per simultanea dilatazione delle arteriole glomerulari afferenti ed efferenti. Questo effetto risulta utile negli ipertesi diabetici in quanto evita il sovraccarico glomerulare che può favorire l'evoluzione glomerulosclerotica non rara nella patologia diabetica, ma non è scevro da rischi negli ipertesi da stenosi bi- o anche unilaterale dell'arteria renale in quanto, in questi casi, la filtrazione glomerulare è sostenuta dalla costrizione dell'arteriola glomerulare efferente indotta in via omeostatica dall'angiotensina.

Documentata anche per il l. la riduzione dell'ipertrofia miocardica nei trattamenti protratti. In diversi studi comparativi con diuretici tiazidici, atenololo, metoprololo, nifedipina, captopril, enalapril, somministrati negli usuali dosaggi terapeutici, il l. è risultato ugualmente efficace in senso antipertensivo.

Nell'insufficienza cardiaca congestizia, gli effetti sul circolo periferico di 5-20 mg/*die* di l. (riduzione del post-carico da caduta delle resistenze periferiche e del precarico da dilatazione dei vasi venosi di capacità con ridistribuzione della massa circolante dal piccolo al grande circolo) si traducono in una più efficiente attività cardiaca (aumento della gettata e della frazione di eiezione) e in una migliorata situazione emodinamica generale e renale che condiziona un aumento dell'escrezione renale di sodio e una riduzione degli edemi. Al pari del captopril e dell'enalapril, anche il l. riduce l'incidenza di eventi mortali nella grave insufficienza cardiaca congestizia.

Resta infine da verificare se il l. eserciti un'azione preventiva nei confronti dell'evoluzione verso l'insufficienza cardiaca di un infarto miocardico acuto; questa eventualità trova sostegno negli studi sperimentali e in quelli clinici preliminari condotti con il captopril.

Oltre alle precauzioni di impiego comuni agli altri inibitori dell'ACE (uso di dosi iniziali contenute per evitare eccessivi effetti ipotensivi da prima somministrazione specie negli ipertesi gravi e nei pazienti in terapia diuretica; attenuazione degli effetti ipotensivi da antinfiammatori non steroidei), vale per il l. il fatto che un aumento delle dosi si traduce in un prolungamento più che in una accentuazione della risposta ipotensiva. Cefalea, vertigini, tosse, *rash*, ageusia, proteinuria e neutropenia (queste ultime frequenti nei soggetti con collagenopatie) rientrano fra gli effetti indesiderati tipici dei farmaci di questo gruppo.

V. IPOTENSIVE SOSTANZE* (col. 4182); ANGIOTENSINA, INIBITORI DELLA* (col. 561).

**Bibliografia**

Frohlich E. D., *Hypertension*, 1989, **13**, suppl. I, 125-130.
Gavras H., *Circulation*, 1990, **81**, 381-388.
Goodman Gilman A., Rall T. W., Nies A. S., Taylor P., *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 1990, 8 ed., Pergamon Press, New York, pp. 756-763.
Lancaster S. G., Todd P. A., *Drugs*, 1988, **35**, 646-669.
Moravec S. C., Schluchter M. D., Paranandi L., Czerska B., Stewart W., Rosenkrantz E., Bond M., *Circulation*, 1990, **82**, 1973-1984.
Ventura G., *Medicina-Riv. E.M.I.*, 1990, **10**, 439.

AMILCARE CARPI DE RESMINI

## LISOSOMALI MALATTIE [v. vol. VIII, col. 2255]

Negli ultimi anni una notevole mole di lavori compiuti nel vasto campo delle malattie lisosomali ha permesso d'individuare sia nuove entità nosologiche (tab. I), che nuove varianti cliniche e le relative basi molecolari. La variabilità clinica è ora considerata, in effetti, una delle caratteristiche più singolari di queste malattie, di cui ogni variante differisce dalle altre per età d'insorgenza, progressione e gravità, pur condividendo il medesimo deficit enzimatico.

Tale eterogeneità di espressione fenotipica è dettata dal diverso grado di deficit enzimatico o, meglio, di attività enzimatica residua; a un'attività residua molto bassa, o nulla, corrisponderà una sintomatologia più grave e a esordio più precoce, mentre con una attività residua bassa, ma sufficiente, si avrà un accumulo solo nel compartimento corporeo, o tipo cellulare, dove il substrato è sintetizzato a maggiore velocità oppure una forma lieve della malattia, con un esordio tardivo e a lenta progressione. Ciò spiega perché il deficit di *β-galattosidasi* è responsabile sia della gangliosidosi $GM_1$ nelle sue tre forme infantile, giovanile e adulta, che della sindrome di Morquio tipo B.

Tuttavia non c'è sempre correlazione tra attività residua e variabilità clinica, come avviene, per es., nella malattia di Gaucher, i cui tre sottotipi non mostrano variazioni enzi-



Digitized by Google

**TAB. 1. MALATTIE METABOLICHE LISOSOMALI**

**A. Alterata sintesi di enzimi* a significato metabolico noto:**
1. *Enzimi interessati nel metabolismo dei glicidi*:
 a) *polisaccaridi*:
  malattia di Pompe (α-1,4 glicosidasi); autosomica recessiva;
 b) *glicidi complessi*:
  α) *con mucopolisaccariduria*:
   1) sindrome di Hurler (α-iduronidasi); autosomica recessiva;
   2) sindrome di Scheie (α-L-iduronidasi);
   3) sindrome di Hurler-Scheie (α-L-iduronidasi); autosomica recessiva;
   4) sindrome di Hunter (iduronato-solfatasi); *X-linked*;
   5) sindrome di Sanfilippo A (eparan-N-solfatasi); autosomica recessiva;
   6) sindrome di Sanfilippo B (α-N-acetilglicosaminidasi); autosomica recessiva;
   7) sindrome di Sanfilippo C (acetil-Coa: α-glicosaminide acetiltransferasi);
   8) sindrome di Sanfilippo D (N-acetilglicosamino 6-solfatasi); autosomica recessiva;
   9) sindrome di Morquio A (galattoso 6-solfatasi); autosomica recessiva;
   10) sindrome di Morquio B (β-galattosidasi); autosomica recessiva;
   11) sindrome di Maroteaux-Lamy (arilsolfatasi B); autosomica recessiva;
   12) sindrome di Sly (β-glicuronidasi), autosomica recessiva;
  β) *con oligosaccariduria*:
   1) mannosidosi (α-D-mannosidasi); autosomica recessiva;
   2) fucosidosi (α-L-fucosidasi); autosomica recessiva;
   3) sialidosi (glicoproteino α-neurominidasi); autosomica recessiva;
   4) aspartilglicosaminuria (aspartilglicosaminidasi); autosomica recessiva;
   5) galattosialidosi (proteina stabilizzante di 34-kd); autosomica recessiva;
  γ) *senza saccaruria*:
   1) *I-cell disease* (N-acetilglicosaminil-1-fosfotransferasi); autosomica recessiva;
   2) pseudo-Hurler polidistrofia (N-acetilglicosaminil-1-fosfotransferasi); autosomica recessiva.
2. *Enzimi interessati nel metabolismo dei lipidi*:
 a) *sfingolipidi*:
  1) gangliosidosi $GM_1$ ($GM_1$ β-galattosidasi); autosomica recessiva;
  2) gangliosidosi $GM_2$ di Tay-Sachs (esosaminidasi A); autosomica recessiva;
  3) gangliosidosi a $Gm_2$ di Sandhoff (esosaminidasi A e B); autosomica recessiva;
  4) gangliosidosi a $GM_2$ variante AB (fattore attivante $GM_2$); autosomica recessiva;
  5) mucolipidosi IV (ganglioside sialidasi); autosomica recessiva;
 b) *glicosilceramidi*:
  1) malattia di Gaucher (glicocerebrosidasi); autosomica recessiva;
  2) malattia di Fabry (α-galattosidasi); autosomica recessiva;
  3) malattia di Schindler (α-N-acetilgalattosaminidasi); autosomica recessiva;
 c) *triosoceramidi*:
  1) malattia di Krabbe (galattocerebroside β-galattosidasi); autosomica recessiva;
 d) *solfogalattosilceramidi (solfatidosi)*:
  1) leucodistrofia metacromatica (arisolfatasi A); autosomica recessiva;
  2) mucosolfatidosi o deficit multiplo di solfatasi (arisolfatasi A, B, C; steroido-solfatasi; mucopolisaccarido-solfatasi); autosomica recessiva;
  3) deficit di fattore attivante solfatasi (SAP-1); autosomica recessiva;
 e) *ceramidefosforilcolina*:
  1) malattia di Niemann-Pick tipo I (sfingomielinasi); autosomica recessiva;
  2) malattia di Niemann-Pick tipo II (sfingomielinasi + colesterolo-esterasi [?]); autosomica recessiva;
 f) *lipidi non/poco polari*:
  1) malattia di Farber (ceramidasi); autosomica recessiva;
  2) malattia di Wolman (lipasi acida lisosomale); autosomica recessiva;
  3) malattia da accumulo di esteri del colesterolo (lipasi acida lisosomale); autosomica recessiva.
3. *Enzimi interessati nel metabolismo di altri composti*:
 deficit di mieloperossidasi; autosomica recessiva.

**B. Alterata sintesi di enzimi a significato metabolico non noto:**
 Deficit di fosfatasi acida lisosomale; autosomica recessiva.

**C. Alterata sintesi di proteine strutturali o dei sistemi di trasporto di membrana:**
 1) Cistinosi; autosomica recessiva;
 2) Sindrome di Chediak-Higashi; autosomica recessiva.

* Tra parentesi l'enzima carente.

matiche di rilievo (Barranger *et al.*, 1984). Inoltre, individui apparentemente normali possono presentare la quasi totale assenza di una particolare attività enzimatica, senza peraltro avere alcun segno clinico. D'altra parte, individui eterozigoti per una data malattia, nella fattispecie quella di Tay-Sachs, con un'attività enzimatica residua del 50%, ritenuta in passato sicuramente sufficiente, possono sviluppare una sintomatologia di ordine psichiatrico altamente invalidante.

È giocoforza, quindi, ipotizzare che altri meccanismi, oltre il deficit del singolo enzima, concorrano nella patogenesi di queste malattie. Per es. Von Figura e Hasilik (1984) propongono le seguenti possibilità: *a*) assenza o carenza dell'enzima; *b*) sintesi di un enzima mutato, cataliticamente inattivo; *c*) difetto di trasporto degli enzimi lisosomali; *d*) aumentata velocità di degradazione degli enzimi; *e*) diminuzione nella concentrazione di un fattore attivante.

Una determinata carenza enzimatica può essere dovuta a uno o più di tali meccanismi e, quindi, mutazioni alleliche diverse possono dar luogo al medesimo difetto metabolico, pur con basi molecolari differenti.

Con l'amniocentesi o la biopsia dei villi coriali (v. VILLI CORIALI, XV, 2038), in quasi tutte queste malattie è possibile la diagnosi prenatale, che nei soggetti a rischio, al pari dell'identificazione degli eterozigoti, rappresenta una misura preventiva fondamentale. Negli ebrei Ashkenazi, per es., l'estesa applicazione di simili procedure diagnostiche ha permesso di ridurre l'incidenza della malattia di Tay-Sachs di circa il 90% (Sandhoff *et al.*, 1989).

Purtroppo la prevenzione, intesa come consulenza genetica prematrimoniale e come monitoraggio di feti a rischio, resta l'unico mezzo valido per difendersi da tali malattie. Nessun presidio terapeutico infatti si è mostrato finora realmente efficace, nonostante recenti tentativi di trapianto di midollo osseo (Krivitt *et al.*, 1990) suscitino qualche timida speranza.





Digitized by Google

**Bibliografia**
Barranger J. A., Murray G. J., Ginnis E. I., in Barranger J. A., Brady R. O., *Molecular Basis of Lysosomal Storage Diseases*, 1984, Academic Press, New York.
Krivitt W. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1990, **322**, 28.
Sandhoff K., Conzelmann E. *et al.*, in *The Metabolic Basis of Inherited Diseases*, 1989, McGraw-Hill, New York.
Scriver C. R., Beaudet A. L., Sly W. S., Valle D. eds., *The Metabolic Basis of Inherited Diseases*, 1989, McGraw-Hill, New York.
Von Figura K., Hasilik A., *Trends Biochem. Sci.*, 1984, **9**, 29-31.

GUIDO PALLADINI E LUIGI CALANDRIELLO

## LISTERIOSI

F. *listériose*. - I. *listeriosis*. - T. *Listeriose*. - S. *listeriosis*.

SOMMARIO



### Etiologia

Con il termine *listeriosi* vengono denominati una serie di quadri clinici sostenuti da batteri del genere *Listeria* e in particolare da *Listeria monocytogenes* (sin.: *Listerella monocytogenes*), isolato per la prima volta dal coniglio da Murray *et al.*

Il genere *Listeria*, considerato per molto tempo comprendere la sola specie *L. monocytogenes*, è oggi sotto revisione tassonomica. Secondo alcuni AA., il genere comprende 8 differenti specie (tab. I) delle quali, tuttavia, solo le prime 5 gli sono ascrivibili mentre per *L. murray* e *L. grayi* è stato proposto il nuovo genere *Murraya* e per *L. denitrificans* il genere *Janesia*. I tre generi (*Listeria*, *Murraya* e *Janesia*) andrebbero a costituire la famiglia delle *Listeriaceae*.

*L. monocytogenes* ha l'aspetto di un bacillo difteroide delle dimensioni di 0,5-0,8 μ × 1,3-1,8 μ. Nei preparati allestiti da materiale patologico assume una disposizione simile a quella dei corinebatteri, di cui ricorda anche la morfologia. È un microrganismo asporigeno, non capsulato, aerobio facoltativo, mobile per la presenza di 3-5 flagelli. Quest'ultimo carattere si evidenzia incubando le colture a temperature inferiori (20-22 °C) a quelle ottimali di crescita. Nei terreni semisolidi incubati per infissione lo sviluppo assume un caratteristico aspetto «a ombrello». Cresce facilmente nei comuni terreni di coltura specie se addizionati di glicoso, siero o sangue *in toto*. La temperatura ottimale di sviluppo varia tra i 15 e 45 °C e il pH ottimale del terreno è di 7,0-7,2. Può essere coltivato anche su membrana corionallantoidea di embrioni di pollo dei quali determina la morte.

*L. monocytogenes* acidifica, senza produzione di gas, glicoso, levuloso, ramnoso, salicina, destroso, mannoso, destrina; non produce indolo né $H_2S$, non fluidifica la gelatina, non riduce i nitrati, fornisce risultati positivi con le reazioni di Clark e Lubs e di Voges-Proskauer, annerisce il brodo-esculina.

Due delle principali proprietà di *L. monocytogenes* utilizzate ai fini del suo isolamento da materiali patologici (placenta, feci, etc.) sono: *a*) la resistenza alla colistina e all'ac. nalidissico; *b*) la capacità di crescere alle basse temperature (4 °C).

In base agli antigeni somatici (O) e flagellari (H) sono stati definiti 11 sierotipi principali; tra questi i ceppi isolati con maggiore frequenza da casi di l. umana negli U.S.A. appartengono ai sierotipi 1b (circa 25%), 4b (circa 20%) e 1a (circa 15%) (le cifre indicano l'antigene somatico, le lettere l'antigene flagellare).

*L. monocytogenes* presenta analogie con molti altri germi grampositivi, fra i quali *Erysipelothrix rhusiopathiae*, agente etiologico dell'erisipeloide, dai quali è possibile differenziarla attraverso lo studio di certi caratteri (sviluppo a 37 °C, mobilità, catalasi). La utilizzazione dell'esculina, la produzione di rosso metile ed acetoina e la patogenicità per la cavia sono caratteri addizionali per la sua differenziazione con *E. rhusiopathiae*.

I germi appartenenti al genere *Listeria* sono dotati di una notevole resistenza nei confronti dei vari fattori nocivi. Particolarmente studiata a questo proposito è la termoresistenza di *L. monocytogenes* dato il frequente suo isolamento da latti pastorizzati; a 71,1 °C presenta un valore D di 0,9 sec.

Il *valore D* è il *tempo di riduzione decimale* del numero di germi ad una data temperatura; in altri termini il tempo richiesto per distruggere il 90% dei germi presenti in una data sospensione. Nel nostro caso a 71,1 °C abbiamo la distruzione del 90% di listerie in 0,9 sec.

L'isolamento del germe, anche da materiale patologico, fino a pochi anni addietro presentava non poche difficoltà; oggi grazie alla messa a punto di particolari terreni di arricchimento e selettivi questo isolamento è reso particolarmente facile anche a partire da prodotti contaminati quali per es. gli alimenti.

**TAB. I. CARATTERISTICHE DIFFERENZIALI DELLE SPECIE APPARTENENTI ALLA FAMIGLIA *LISTERIACEAE***

| | Emolisi | Nitrati | Camp test * | | Acido da | | | Patogenicità sul topo |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | (b) | (c) | Mannitolo | Ramnoso | Xiloso | |
| *L. monocytogenes* | + | − | + | − | − | + | − | + |
| *L. ivanovii* | + + | − | − | + | − | − | + | + |
| *L. innocua* | − | − | − | − | − | v | − | − |
| *L. welshimeri* | − | − | − | − | − | v | + | − |
| *L. seeligeri* | + | − | + | − | − | − | + | − |
| *L. grayi (Murraya grayi)* | − | − | | | + | − | − | − |
| *L. murrayi (Murraya murrayi)* | − | + | | | + | v | − | − |
| *L. denitrificans (Janesia denitrificans)* | − | + | | | − | − | + | + (a) |

* Prova di potenziamento dell'attività emolitica in presenza dei due germi test
v = variabile; (a) = non si ritiene patogena per l'uomo; (b) = su *Staphylococcus aureus*; (c) = su *Rhodococcus equi*.



Digitized by Google

*Potere patogeno*. – Solo due specie (*L. monocytogenes* e *L. ivanovii*) risultano patogene per gli animali e per l'uomo; tuttavia, tutti sono dell'opinione che *L. monocytogenes* sia la specie più virulenta e quella maggiormente riscontrata sia in patologia umana che animale. *L. ivanovii* è frequentemente causa di aborti nella pecora, nella capra e nelle bovine, ma solo occasionalmente è stata isolata da casi di malattia umana. *L. seeligeri* è stata isolata una sola volta da un caso di meningite ma è ritenuta, unitamente alle altre specie, apatogena.

Non è nota la dose infettante per l'uomo, ma si ritiene che sia abbastanza elevata. Tale dose, tuttavia, si riduce nel caso di soggetti così detti a rischio rappresentati da: feto, neonato, soggetti immunodepressi, soggetti sottoposti a terapia immunosoppressiva, alcolisti, tossicodipendenti, etc. Soggetti a rischio sono pure allevatori, veterinari, maestranze addette alla industria alimentare.

Sono recettivi sperimentalmente tutti gli animali naturalmente sensibili, i quali possono venire inoculati per qualsiasi via. Nel coniglio e nella cavia l'instillazione del materiale nel sacco congiuntivale viene utilizzata come prova diagnostica (*Anton test*) in quanto provoca dopo 24-36 h una cheratocongiuntivite purulenta da cui con facilità l'agente patogeno può essere nuovamente isolato.

## Epidemiologia

*L. monocytogenes* è largamente distribuita in natura. È stata isolata da almeno 42 specie di mammiferi, oltre che dall'uomo, da 22 specie di volatili, da zecche, tabanidi, da pesci e crostacei, come pure da acque, fango, concime, insilati. Sebbene il germe sia così largamente diffuso in natura, la malattia ha per lo più un carattere sporadico.

Gli animali, siano essi malati che portatori sani, eliminano il germe con gli escreti o con il materiale patologico (scolo nasale, scolo vaginale, invogli fetali, etc.) nell'ambiente esterno dove, data la sua elevata resistenza alle condizioni avverse, può sopravvivere per periodi di tempo abbastanza lunghi.

Sotto il profilo epidemiologico, tra gli animali rivestono la massima importanza i ruminanti, i roditori ed i volatili, soprattutto i migratori; va ricordato che nelle bovine colpite da l. si ha eliminazione del germe nei 3-12 mesi successivi l'infezione mentre il latte di alcune di queste bovine risulta contenere il microrganismo per 1-12 mesi dopo l'aborto.

Tentativi di isolamento del germe dal terreno e dai vegetali hanno dimostrato la sua presenza un po' ovunque, ma in particolare nei terreni incolti, con una positività oscillante tra il 9,7 e il 44% dei campioni esaminati.

*L. monocytogenes* è stata isolata pure da numerosi prodotti alimentari quali latte (pastorizzato e non), formaggi, carni e derivati, volatili e derivati, vegetali freschi e surgelati con una percentuale di positività molto variabile, ma relativamente alta.

È stato dimostrato che una percentuale oscillante tra il 5 e il 10% degli animali recettivi risultano portatori sani a livello intestinale ed eliminatori pertanto con le feci di *L. monocytogenes* nell'ambiente. Per quanto riguarda l'uomo, diverse indagini hanno dimostrato che circa il 5% della popolazione risulta portatrice fecale sana, percentuale che si eleva al 29% ed oltre nelle maestranze addette alla macellazione del pollame ed alla lavorazione di queste carcasse.

In tempi relativamente recenti sono comparse in letteratura alcune segnalazioni di epidemie di l. in Stati del nord-America e dell'Europa e, parallelamente, forse anche in conseguenza di tali studi, sono state realizzate indagini epidemiologiche retrospettive finalizzate ad individuare la reale incidenza della l. sporadica nella popolazione europea e nordamericana (Gellin e Broome, 1989). Da tali studi è emerso che la fonte di infezione delle epidemie di l. occorse in California, nel Massachusetts e in Svizzera è stata identificata in alimenti contaminati (latte non pastorizzato, formaggi freschi), e che la letalità della malattia ha raggiunto anche picchi di 29-33% in pazienti adulti non immunocompromessi (Linnon *et al.*, 1989).

Per quanto riguarda l'incidenza delle forme sporadiche di l. i *Centers for Disease Control* statunitensi hanno riportato tassi annuali, negli U.S.A., di 7,1 casi per milione di abitanti mentre in studi condotti in Europa vengono riferiti tassi di incidenza variabili da 0,1 a 11,3 per milione di abitanti (McLauchlin, 1990). Questa grande variabilità è in parte da attribuirsi a reali differenze regionali di incidenza della malattia, anche se non è da escludere che in alcuni casi ci si trovi di fronte a dati sottostimati in relazione alla difficoltà di ottenere diagnosi etiologiche certe.

## Modalità di trasmissione

Se si esclude la trasmissione materno-fetale, che può verificarsi in utero o durante il parto, non si conoscono ancora esattamente le modalità di trasmissione del germe.

Sono state prese in considerazione la via orale, genitale, cutanea, congiuntivale, aerea come pure quella tramite insetti vettori.

Gli studi più recenti, tuttavia, ad eccezione dei casi di trasmissione per contatto diretto con materiale patologico, tendono a dare la massima importanza alla via alimentare attraverso gli insilati, nell'animale, o gli alimenti vegetali o di origine animale, nell'uomo.

### Listeriosi in patologia veterinaria

L'infezione naturale si manifesta per lo più durante l'inverno e la primavera. L'alimentazione con insilati, tipica di questi periodi, riveste grande importanza nell'epidemiologia di questa malattia. Infatti, l'isolamento di questo germe dagli insilati, nei quali rimane vitale per lunghi periodi di tempo, è molto frequente (in alcuni paesi la malattia viene chiamata «malattia degli insilati»). Anche l'intervento di cause debilitanti che favoriscono la virulentazione di *L. monocytogenes*, presente allo stato saprofitico nei soggetti recettivi, sembra rivestire notevole importanza dal punto di vista epidemiologico. Si ritiene che il ratto e il furetto rappresentino particolari serbatoi e propagatori del germe nell'ambiente.

La malattia si presenta in 4 forme distinte: *a*) *forma nervosa*, caratterizzata da temperatura elevata (40 °C e più), disturbi visivi, incoordinazione dei movimenti, paralisi del labbro inferiore, della lingua, dei muscoli masticatori e del sistema di deglutizione; non di rado si osserva la rotazione della testa e del collo da un lato con deambulazione in ampi circoli dalla parte in cui tale rotazione è avvenuta; l'esito più comune di questa forma è la morte; tuttavia sono stati descritti casi di guarigione; *b*) *forma setticemica*, caratterizzata da temperatura elevata, depressione del sensorio, cianosi delle mucose visibili, accelerazione del polso e del respiro, diminuzione, negli animali lattiferi, della portata lattea, nei roditori inoltre si ha un'enorme dilatazione del ventre dovuta alla presenza di un essudato sieroso nella cavità peritoneale; anche in questa forma l'esito più comune è la morte; *c*) *forma abortigena*, cui generalmente vanno soggetti gli animali al primo o secondo parto e, solo eccezionalmente, quelli in età avanzata. Nei bovini l'aborto si manifesta tra il IV e l'VIII mese di gestazione, negli ovini e nei caprini al termine della gravidanza. Gli animali abortiscono senza presentare, per lo più, alcun sintomo di malattia; *d*) *forma mastitica*, descritta in Danimarca nel 1972, che decorre in forma inapparente.

Nei soggetti adulti appartenenti alle specie bovine, equina, ovina, caprina e suina prevale generalmente la forma nervosa; nei piccoli animali (volatili e roditori) come pure nei soggetti giovani delle altre specie prevale invece la forma setticemica. Nelle femmine gravide prevale la forma abortigena.

Non esiste ancora un metodo di immunizzazione di sicuro affidamento, anche se in questi ultimi anni è stato saggiato in campo pratico un vaccino vivo attenuato con ottimi risultati.

### Listeriosi in patologia umana

La forma più importante di l. umana è rappresentata dall'infezione perinatale acquisita o attraverso la placenta (v. GRAVIDANZA, *listeriosi congenita*, VII, 920), o al momento del parto.



Digitized by Google

Oltre che nel neonato, la l. si può manifestare anche in soggetti adulti con un massimo di incidenza al di sopra dei 40 anni. Il contagio interumano nell'adulto non è stato mai dimostrato con certezza; esiste tuttavia uno stato di portatore sano, che potrebbe avere una rilevanza epidemiologica. Nell'adulto, l'insorgenza della malattia è facilitata da neoplasie (in particolare del sistema linforeticolare), da cirrosi e da trattamenti terapeutici a base di cortisonici, farmaci citotossici o irradiazioni. Per quanto riguarda i soggetti immunocompromessi una frequenza particolarmente elevata di infezione da *L. monocytogenes* è stata documentata in pazienti sottoposti a trapianto di rene: ed è stato segnalato che, sebbene sia un'affezione di non frequente riscontro in pazienti con AIDS, tuttavia il rischio che questi soggetti ammalino di l. è quasi 100 volte superiore a quello stimato per l'adulto sano. In questi pazienti è stata inoltre segnalata la più frequente occorrenza di quadri di infezioni localizzate (endoftalmiti, artriti settiche, osteomieliti, polmoniti, colecistiti, etc.) in corso di batteriemie da *L. monocytogenes* (Vella *et al.*, 1990).

L'infezione occorsa in gravidanza è spesso asintomatica o poco sintomatica (febbre, dolori lombari) per la gravida e risolve spontaneamente.

Nei casi di infezione embriofetale precoce si ha molto frequentemente aborto o morte intrauterina del feto (v. GRAVIDANZA, *listeriosi congenita*); nel caso di infezione del feto nell'ultimo trimestre di gravidanza o del neonato al momento del parto si possono osservare due sindromi diverse:

a) *forma precoce* con infezione disseminata: quadro setticemico con mortalità elevatissima nelle prime ore o giorni di vita (30-60%) e quadri di insufficienza cardiorespiratoria, vomito, diarrea, culminanti nella forma nota come granulomatosi infantisettica o miliare, caratterizzata da epatosplenomegalia e da papule cutanee rosso-scuro per lo più alle estremità inferiori, necroscopicamente corrispondenti ad una disseminazione di ascessi e granulomi pluriparenchimali;

b) *forma tardiva* meningea, con un più basso tasso di letalità (10-25%).

Nell'adulto la forma più frequente di l. è quella meningea e meningoencefalica, anche se può verificarsi, più raramente, la forma setticemica. Piuttosto rare sono l'endocardite, la l. tifoidea caratterizzata da batteriemia e febbre elevata, la l. oculo-ghiandolare caratterizzata da oftalmite ed interessamento dei linfonodi regionali, la l. cervicovaginale, la l. cutanea e la uretrite.

La sintomatologia clinica non è mai sufficiente a far porre la diagnosi di l. e, pertanto, nei casi sospetti la diagnosi deve essere confermata con gli esami di laboratorio effettuati su campioni di sangue, liquido cerebrospinale, meconio, essudati vaginali, etc., e basata sull'osservazione microscopica diretta, sulle prove colturali, sull'inoculazione in animali e sui metodi sierologici di identificazione delle eventuali listerie isolate.

### Diagnosi di laboratorio

*Esame microscopico diretto.* – Può dare un utile indirizzo nel corso di esame di materiale normalmente sterile (liquido amniotico, liquido cefalorachidiano) mentre nel caso di materiale polimicrobico risulta più utile ricorrere al test di immunofluorescenza diretta (IFA).

*Esame colturale.* – Risponde ottimamente quando sono esaminati materiali monobatterici in quanto *L. monocytogenes* non presenta particolari esigenze nutrizionali e pertanto sviluppa sui comuni terreni colturali. Più difficile è l'isolamento del germe da materiale contaminato con altri microrganismi; oggi tuttavia sono reperibili in commercio ottimi terreni di arricchimento e selettivi che facilitano questo isolamento.

*Test sierologici* (sieroagglutinazione, fissazione del complemento, emoagglutinazione, IFA, precipitazione, inibizione dell'emoagglutinazione [EIA]). – Sono poco rispondenti nel caso di diagnosi di malattia in atto sia perché si dovrebbe operare su due campioni prelevati a 2-3 settimane di distanza l'uno dall'altro sia perché presentano una certa aspecificità. I test sierologici sono invece largamente utilizzati negli studi epidemiologici. La fissazione del complemento si è dimostrata in grado di fornire i migliori risultati.

### Terapia

Non presenta problemi nel caso di diagnosi precoce di l.; *L. monocytogenes*, infatti, è sensibile ai più comuni antibiotici (penicillina G, ampicillina, tetracicline, cloramfenicolo, sulfonamide). Sebbene l'ampicillina rappresenti l'antibiotico di elezione, è stato dimostrato che una sua associazione con un aminoglicoside fornisce risultati migliori.

**Bibliografia**

Al-Ghazali M. R., Al-Azawi S. K., *J. Appl. Bacteriol.*, 1986, **60**, 251.
Bourdin J. C., Weber M., *Bull. Inst. Pasteur*, 1872, **70**, 73.
Ciesielski C. A., *Clin. Microbiol. New*, 1987, **9**, 149.
Fenlon D. R., *J. Appl. Bacteriol.*, 1985, **59**, 537.
Fleming D. W., Cochi S. L., Mc Donald K. L., *N. Engl. J. Med.*, 1985, **312**, 404.
Gellin B. G., Broome C. V., *JAMA*, 1989, **261**, 1313.
Kampelmacher E. H., Van Noorle Jansen M. L., *Bakt. J. Abt. Orig.*, 1969, **211**, 355.
*Lancet*, 1985, **ii**, 364.
Linnau M. J. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1989, **319**, 823.
Luppi A., Rocourt J., Bucci G., Maini P., *Boll. Ist. Sierot. Milan.*, 1986, **65**, 108.
McLauchlin J., *Epidemiol. Infect.*, 1990, **104**, 191.
Seeliger H. P. R., *Listeriosis*, 1961, Karger, Basel.
Seeliger H. P. R., *L. monocytogenes*, in Brande A. I., *Medical Microbiology and Infectious Diseases*, 1981, Saunders, Philadelphia, 306.
Sizmur K., Walker C. W., *Lancet*, 1988, **1**, 1167.
Vella S. *et al.*, *Medicina - Riv. EMI*, 1990, **10**, 6.
Weiss J., Seeliger H. P. R., *Appl. Microbiol.*, 1975, **30**, 29.
WHO Working Group Foodborne Listeriosis, *Bull. W.H.O.*, 1988, **66**, 421.

GIANFRANCO TIECCO

**LITIO**: v. LITIO (VIII, 2290); ANTIDEPRESSIVI FARMACI* (col. 665).

## LITOTRISSIA EXTRACORPOREA AD ONDE D'URTO

I. *shock waves extracorporeal lithotripsy.*

SOMMARIO

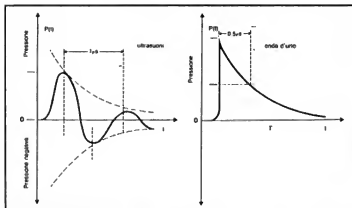


### Principi fisici e cenni storici

Il principio fisico della litotrissia extracorporea ad onde d'urto [l.] è sorprendentemente semplice in quanto si basa sulle proprietà del suono. Alcune di tali proprietà da molti anni vengono utilizzate in medicina per la raccolta di informazioni diagnostiche con l'auscultazione, la percussione o l'ecografia. Solo recentemente è stata però scoperta la possibilità di usare il suono come mezzo terapeutico per trasmettere energia mediante onde d'urto. Questa invenzione ha avuto la sua origine in tutt'altro campo di ricerca: l'ae-



Digitized by Google

Fig. 1. *A sinistra*: l'onda ultrasonora è caratterizzata da una sinusoide di compressione e rarefazione. *A destra*: l'onda d'urto consiste in un singolo impulso di pressione con picco immediato e un graduale decadimento.

ronautica. Nella ricerca sulle cause di danni ai materiali riscontrati sugli aerei supersonici, gli ingegneri della Dornier scoprirono negli anni '60 il principio delle onde d'urto. Essi dimostrarono che la produzione di onde d'urto è dovuta allo sviluppo di una pressione molto elevata nel punto d'impatto delle gocce di pioggia sulle ali di tali aerei. Le onde d'urto si propagano e determinano la formazione di crepe a distanza notevole dal punto d'impatto.

Nell'ambito delle successive ricerche fu scoperta una caratteristica di utilità decisiva in medicina: le onde d'urto attraversano i tessuti senza apportarvi danni.

I primi studi su sistemi biologici furono effettuati nel 1972 a Monaco di Baviera nella Clinica di Ricerche in Chirurgia. L'applicazione terapeutica ne fu l'immediata conseguenza. Nel 1976 si dimostrò che i calcoli renali erano comunque frammentati indipendentemente dalla struttura chimica anche se differenze potevano essercì sui tempi e sull'energia utilizzata.

Nel 1978 iniziò la sperimentazione sul cane, nelle cui pelvi venivano introdotti dei calcoli di diverse dimensioni. Nel febbraio 1980 fu trattato il primo paziente presso l'Università di Monaco e da allora la l. è considerata uno dei trattamenti di scelta della litiasi urinaria. Nel 1985, sempre presso la stessa Università, venne eseguito il primo trattamento di l. biliare colecistica utilizzando un prototipo che presentava alcune modifiche rispetto al litotritore urinario originale.

Le onde d'urto sono onde acustiche ad alta frequenza che necessitano di un mezzo per propagarsi. Esse si presentano come un impulso pressorio che raggiunge il picco di pressione nel giro di un nanosecondo per poi decrescere in modo esponenziale e che viaggia ad una velocità superiore a quella del suono. Tradotta in immagine (fig. 1) l'onda d'urto ha una forma triangolare ovvero si tratta di un sinusoide composto da una fondamentale di 20.000 hertz e da armoniche di ampiezza e fasi tali da comporre un impulso triangolare. La rapidità di propagazione dell'onda d'urto le consente di attraversare i tessuti senza che questi risentano degli effetti termici e di raggiungere il calcolo senza subire attenuazioni sostanziali nel passaggio attraverso gli stessi. Le onde ultrasoniche, invece, avendo una frequenza maggiore hanno bisogno di un tempo di propagazione più lungo. Esse subiscono, quindi, delle forti attenuazioni nell'attraversare i tessuti, proprietà sfruttate nella diagnostica ecografica (v. ECOGRAFIA*).

**Propagazione delle onde d'urto e meccanismi di frantumazione**

Le onde d'urto, una volta prodotte dall'apposito apparecchio (v. sotto), si propagano in un certo volume d'acqua nel quale è immerso il corpo del paziente. Tale acqua normalmente è riscaldata e degasificata per costituire un mezzo omogeneo con i tessuti corporei ed evitare riflessioni indesiderate all'interfaccia con la cute. Per tale motivo è importante l'accoppiamento della superficie corporea con l'ambiente di produzione e di propagazione delle onde d'urto. Tale accoppiamento può oggi avvenire, a seconda del tipo di apparecchiatura, non solo attraverso l'immersione del corpo in una vasca d'acqua, come avveniva nel litotritore di prima generazione Dornier HM3, ma anche per immersione di una sola parte (addome o regione dorsolombare) che corrisponde alla zona d'entrata delle onde d'urto.

In alcuni litotritori di ultima generazione il sistema di produzione delle onde d'urto è raccolto in un cilindro contenente acqua e chiuso da una cupola di materiale plastico con cui la superficie corporea viene a contatto. L'accoppiamento avviene mediante uno strato di gel idrosolubile del tipo di quello che viene usato normalmente in ecografia. Una volta penetrate attraverso la cute, le onde d'urto passano le parti molli senza provocare danni. Ciò avviene perché le parti molli, grazie al loro elevato contenuto idrico, hanno un'impedenza acustica quasi uguale a quella dell'acqua (per impedenza acustica si indica la resistenza che un mezzo oppone al passaggio di onde acustiche o di pressione).

Il calcolo viene posizionato nelle zone di massima concentrazione delle onde d'urto (fuoco) e viene investito da onde con un'elevata pressione d'impatto. Avendo un'impedenza acustica di gran lunga inferiore, l'onda d'urto lo fa entrare in risonanza: l'onda che attraversa il calcolo giunge al polo opposto dove trova un'interfaccia tra un mezzo con minore impedenza (calcolo) e uno con maggior impedenza (tessuti) e, perciò, viene nuovamente riflessa all'interno del calcolo stesso. L'onda rimane così imprigionata all'interno del calcolo, generando un'alternanza di forze compressive e di trazione che vincono il limite di elasticità proprio delle strutture del calcolo, determinandone la disintegrazione. Un altro meccanismo che interviene nella frantumazione è rappresentato dall'effetto di cavitazione: nel liquido circo-





Digitized by Google

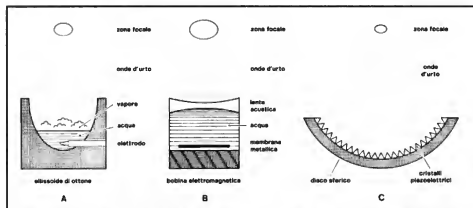



Fig. 2. Raffigurazione schematica dei vari tipi di litotritore ad onde d'urto oggi disponibili: *A*) elettroidraulico (o elettrostatico); *B*) elettromagnetico; *C*) piezoelettrico (le modalità di funzionamento e le caratteristiche d'impiego sono spiegate nel testo).

stante al calcolo, per l'elevata concentrazione di onde ad alta pressione, si formano delle bollicine d'aria che collassano nel giro di qualche nanosecondo. Ne consegue un microgetto di acqua diretto verso la superficie del calcolo che produce una erosione o cavitazione superficiale. Se la cavitazione è un meccanismo importante per la frantumazione del calcolo, essa potrebbe, però, svolgere un ruolo rilevante anche nel determinare un effetto lesivo sui tessuti circostanti.

**I litotritori**

Gli apparecchi per la l. extracorporea sono costituiti da 3 componenti: *a*) un sistema di generazione d'onde d'urto; *b*) un sistema di concentrazione di onde d'urto in un fuoco; *c*) un sistema di localizzazione e di puntamento del calcolo.

Le diverse caratteristiche tecniche dei litotritori in commercio sono riportate nella tab. I e schematicamente rappresentate nella fig. 2.

*Sistemi di generazione delle onde d'urto*

Esistono 3 differenti sistemi per la generazione delle onde d'urto: il sistema elettroidraulico, il sistema elettromagnetico e il sistema piezoelettrico.

Nel *sistema elettroidraulico* (o *elettrostatico*; fig. 2, *A*), il generatore, attraverso un elettrodo immerso nell'acqua, produce una scarica elettrica ad alto voltaggio che causa la vaporizzazione esplosiva delle molecole d'acqua interposte tra i poli dell'elettrodo stesso. La conseguente rapida espansione di pressione provoca la genesi dell'onda d'urto. Tale sistema è stato utilizzato nel litotritore Dornier impiegato originariamente a Monaco per i trattamenti di l. renale.

Il *sistema elettromagnetico* (fig. 2, *B*) è costituito da un generatore di corrente ad alto voltaggio che alimenta un solenoide. Gli impulsi creano un campo elettromagnetico che muove rapidamente per attrazione e repulsione una membrana metallica. Questo movimento genera, a sua volta, l'onda d'urto che si propaga in un mezzo liquido contenuto in un apposito cilindro.

Il principio fisico del *sistema piezoelettrico* (fig. 2, *C*) è basato sulla generazione di impulsi sonori ad alta energia. Il trasduttore piezoelettrico è costituito da un mosaico di elementi piezoceramici applicati su una calotta sferica contenente acqua. Le onde d'urto vengono generate dall'espansione degli elementi piezoelettrici eccitati da un segnale elettrico ad alta tensione.

*Sistema di concentrazione delle onde d'urto*

Il sistema di concentrazione delle onde d'urto è diverso a seconda del tipo di generatore.

Nei litotritori con generatore elettroidraulico le onde d'urto vengono concentrate nel fuoco da un ellissoide. In quello elettromagnetico la focalizzazione delle onde d'urto avviene attraverso una lente biconvessa. In quelli di tipo piezoelettrico il sistema è autofocalizzante, attraverso adattamenti del trasduttore stesso.

*Sistema di localizzazione e puntamento del calcolo*

I litotritori di prima generazione avevano un sistema di puntamento radiologico in quanto erano stati ideati per il

**TAB. I. CARATTERISTICHE TECNICHE DEI DIVERSI GENERATORI DI ONDE D'URTO IMPIEGATI IN LITOTRISSIA**

| Sistemi di generazione | Sistemi di messa a fuoco | Dimensioni della zona focale | Guadagno energetico |
|---|---|---|---|
| Elettrostatico (elettroidraulico) | Ellissoide | Medie o grandi | + o + + |
| Piezoelettrico | Autofocus | Piccole | + + + |
| Elettromagnetico | Lente acustica | Grandi | + + |



Digitized by Google

trattamento dei calcoli urinari, che sono in gran parte radiopachi. L'estensione della metodica alla calcolosi biliare radiotrasparente ha reso necessario l'impiego dell'ecografia per la localizzazione del calcolo, che offre anche il vantaggio di non esporre a radiazioni. Gli apparecchi di più recente costruzione dispongono o sono predisposti per l'impiego del sistema sia ecografico che radiologico.

*Caratteristiche tecniche dei differenti litotritori: implicazioni pratiche*

I litotritori hanno caratteristiche diverse per quanto riguarda la pressione massima raggiunta nel fuoco e le dimensioni dell'area focale. Se si distinguono le apparecchiature sulla base del sistema di generazione di onde d'urto, va rilevato che con il sistema elettrostatico si ottiene al fuoco una pressione massima superiore a quella che si raggiunge con gli altri 2 sistemi. L'area focale è molto piccola con gli strumenti piezoelettrici (circa 3 × 10 mm) mentre è molto grande per quelli elettromagnetici ed elettroidraulici di prima generazione (15 × 30-60 mm). Nelle apparecchiature di ultima generazione, specie in quelle di tipo elettroidraulico, il fuoco presenta dimensioni intermedie.

La relazione tra pressione focale e dimensioni del fuoco è importante, in quanto condiziona in qualche modo l'efficacia di frammentazione e la tollerabilità. L'efficacia, sulla base dei dati oggi disponibili in letteratura, sembra maggiore per gli strumenti elettroidraulici almeno per quanto riguarda il singolo trattamento. La tollerabilità, viceversa, è migliore per le apparecchiature piezoelettriche che consentono di effettuare ripetuti interventi senza effetti collaterali e senza la necessità di impiegare analgesici.

Un aspetto importante è legato al fatto che nelle macchine con fuoco più piccolo il puntamento del calcolo richiede maggiore precisione e accuratezza e quindi l'apprendimento dell'operatore è più lento.

**Applicazioni attuali**

La l. trova la sua maggiore indicazione nel trattamento della litiasi urinaria, prima di pertinenza esclusivamente chirurgica: si ritiene che almeno il 90% dei calcoli urinari siano trattabili con questa tecnica (v. UROLITIASI, XV, 1345). Uno spazio più limitato sembra avere nella terapia della calcolosi colecistica, in quanto le indicazioni oggi accettate riguardano solo i pazienti con storia di colica biliare, calcoli radiotrasparenti di dimensioni comprese tra 6-30 mm ed in numero non superiore a 3 in colecisti funzionante. Seguendo tali criteri una frazione limitata di pazienti (intorno al 10-15%) è candidabile al trattamento. Un impiego importante sul piano clinico è quello nella litiasi delle vie biliari (v. FEGATO E VIE BILIARI*, 3123). Quando l'approccio endoscopico non ha avuto successo, il trattamento di l. è indicato, specie nel paziente ad elevato rischio operatorio. Esso consente di frantumare il calcolo in frammenti che possono essere eliminati spontaneamente o estratti per via endoscopica. È realistico ipotizzare in un futuro anche prossimo che i progressi nell'ambito tecnologico porteranno ad ottimizzare risultati e ad estendere l'applicazione della l. anche alla litiasi pancreatica e salivare.

V. anche: COLELITIASI* (col. 1775); FEGATO E VIE BILIARI* (col. 3123); UROLITIASI (XV, 1345).

Per la *laserlitotrissia* nelle litiasi delle vie biliari e delle vie urinarie, v. LASER* (coll. 4374 e rispettivamente 4432).

**Bibliografia**


Chaussy C., *Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy, New Aspects in the Treatment of Kidney Stone Disease*, 1982, Karger, Munich, p. 4.
Hunter P. T. *et al.*, *J. Urol.*, 1986, **136**, 733.
Katz J. L., *Proceedings of the National Academy of Science. The National Research Conference on Urolithiasis, 1972.*
Lubock P., *Dig. Dis. Sci.*, 1989, **34**, 999.
Sackman M. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1988, **318**, 393.
Wells P. N. T., *Biomedical Ultrasonics*, 1977, Academic Press, New York, p. 124.


MAURO PODDA E MASSIMO ZUIN

## LOPERAMIDE E DIFENOSSILATO

F. *lopéramide*; *diphénoxylate*. - I. *loperamide*; *diphenoxylate*. - T. *Loperamide*; *Diphenoxylat*. - S. *loperamina*; *difenoxilato*.

La loperamide e il difenossilato sono sostanze con formula di struttura simile alla meperidina e per il loro effetto costipante sono utilizzate in terapia nel trattamento della diarrea. Sono farmaci agonisti periferici degli oppiacei: aumentano la soglia del riflesso peristaltico e rallentano il transito intestinale, rendendo più consistenti le feci e riducendo la perdita di elettroliti; hanno effetto pronto e prolungato sia sulla diarrea acuta che cronica. Come gli oppiacei sono controindicati nella diarrea da colite ulcerosa, in quanto possono provocare «ileo» o megacolon tossico. A dosi elevate possono determinare: euforia, irrequietezza, *rashes*, vertigini, sonnolenza e sopprimere la sindrome da astinenza da morfina.

**Difenossilato**

Il d. è rapidamente assorbito per via orale, raggiunge la massima concentrazione ematica dopo 2 h dalla somministrazione e viene metabolizzato ad ac. difenossilico e ad ac. idrossifenossilico, principali metaboliti attivi. L'emivita plasmatica è di circa 2,5 h ed è escreto prevalentemente con le feci. Ogni compressa, pari ad 1 ml di soluzione, contiene 2,5 mg di d. e 0,025 mg di atropina solfato. La dose consigliata nella diarrea è, negli adulti, 20 mg al giorno refratti in 3-4 somministrazioni; nei bambini dai 2 ai 6 anni: 1 gtt/kg peso corporeo, 3-4 volte al giorno; oltre i 6 anni: 1 compressa, o 20 gtt., 3-4 volte al giorno.

Gli effetti indesiderati di tale farmaco sono riconducibili alle sue proprietà oppiacee. In seguito a somministrazione cronica può indurre dipendenza fisica morfinosimile. Il d. potenzia inoltre gli effetti dei barbiturici e dei farmaci depressivi del S.N.C., può causare coma nei pazienti affetti da cirrosi epatica e, nei bambini, può indurre depressione respiratoria.

In Italia il d. cloridrato è disponibile, per ragioni di sicurezza e per prevenirne l'abuso, solo in associazione con atropina solfato (Reasec®) in compresse e in soluzioni per la somministrazione in gocce. Tale associazione combina l'effetto costipante del d. con la proprietà spasmolitica dell'atropina; la difficoltà del trattamento in caso di un sovradosaggio accidentale suggerisce che il farmaco sia confezionato utilizzando flaconi muniti di una capsula ad apertura razionale e non istintiva, resistenti all'apertura da parte dei bambini. Sono stati infatti riportati episodi di sovradosaggio in bambini di età inferiore ai 5 anni, anche in seguito a dosi modeste del farmaco (1-5 compresse), con sintomi quali: midriasi, nausea, secchezza delle fauci, tachicardia, fino al coma e all'arresto cardiorespiratorio. La depressione respiratoria è reversibile con il nalossone (v. NALOSSONE E NALTRESSONE*), mentre l'atonia intestinale indotta dal farmaco rende essenziale la lavanda gastrica.

**Loperamide**

La l. rallenta la motilità gastrointestinale agendo sui muscoli circolari e longitudinali dell'intestino. Tali effetti sono dovuti ad un meccanismo oppiaceo. Tuttavia a concentrazioni elevate la l. si lega alla calmodulina, riducendo così





Digitized by Google

l'attività di numerosi enzimi dipendenti dal calcio: tale azione non è antagonizzata dal nalossone.

La l. è utilizzata in terapia, oltre che come antidiarroico, nel consolidamento delle feci nella ileostomia (per uso saltuario) e nella colectomia per colite ulcerosa, quando le misure dietetiche risultino insufficienti o le perdite totali di elettroliti, per via intestinale e renale, siano eccessive. La l. è controindicata negli epatopazienti, per l'effetto negativo rappresentato dalla stipsi, e nella patologia parietale del colon per il pericolo di perforazione. L'effetto collaterale più frequente è costituito da crampi addominali. Una modesta tolleranza si instaura per l'effetto costipante del farmaco. La l. somministrata a dosi elevate, in scimmie rese morfinodipendenti, sopprime i sintomi di astinenza. Tuttavia l'abuso per via parenterale è difficile a causa della sua bassa capacità di superare la barriera ematoencefalica.

Gli studi condotti fino ad ora suggeriscono che la l. sia da preferire al d., sia perchè relativamente priva di effetti sul S.N.C. sia perché le preparazioni di l. non contengono atropina. Sono stati riportati, tuttavia, casi di bambini nei quali la l. ha causato irritabilità, sonnolenza, ileo, distonia, pupille a punta di spillo e depressione respiratoria. Questo suggerisce che nei bambini il trattamento per la diarrea debba consistere in primo luogo nella reidratazione e in secondo luogo nella eventuale somministrazione di un agente costipante.

La l. raggiunge la massima concentrazione plasmatica 4 h dopo la somministrazione; questo tempo di latenza può essere dovuto alla inibizione della motilità gastrointestinale e alla circolazione enteroepatica del farmaco. La l. non è ben assorbita per via orale e non penetra bene nell'encefalo; tali proprietà contribuiscono alla selettività della sua azione. Il farmaco è escreto prevalentemente con le feci.

È disponibile come l. cloridrato (Ami-29®, Blox®, Brek®, Imodium®, Lodis®, Lopemid®, Loperyl®, Tebloc®) in capsule da 2 mg e sotto forma di soluzione (1 mg/5 ml). La dose terapeutica è di 4-8 mg al giorno, e la dose giornaliera non deve superare i 16 mg.

Un regime terapeutico combinato con l. (dose di carico di 4 mg seguita da 2 mg ad ogni scarica diarroica, non eccedenti però i 16 mg al dì) e con trimetoprim-sulfametossazolo (160 mg di trimetoprim e 800 mg di sulfametossazolo, 2 volte al dì per 3 giorni) si è dimostrato molto efficace nel trattamento della diarrea dei viaggiatori (Ericcson *et al.*, 1990).

**Bibliografia**

Drukes M. N. G., *Meyler's side effects of drugs*, 1972; 1975; 1988; Elsevier, Amsterdam.
Ericcson C. D. *et al.*, *JAMA*, 1990, **263**, 257.
Goodman & Gilman, *Le basi farmacologiche della terapia*, 1987, Zanichelli, Bologna.
Paroli E., *Farmacologia clinica. Tossicologia*, 1985, SEU, Roma.

MARIA CATERINA GRASSI

## LORCAINIDE

F. *lorcainide*. - I. *lorcainide*. - T. *Lorkainde*. - S. *lorcanide*.

È un antiaritmico appartenente alla classe IC di Vaughan Williams modificata da Harrison, come l'encainide (v.*), la flecainide (v.*) e il propafenone (v.*). È disponibile sia per uso endovenoso che orale; è attiva sia sulle aritmie sopraventricolari che ventricolari. Possiede un metabolita attivo: la norlorcainide.

Non è attualmente in commercio in Italia.

### Azione elettrofisiologica

Rallenta selettivamente la corrente veloce del sodio, riduce la velocità di salita del potenziale d'azione monofasico (fase 0), rallenta la conduzione e prolunga il periodo refrattario effettivo e i tempi di recupero in tutti i tessuti cardiaci. La durata del potenziale d'azione monofasico subisce un leggero incremento. Deprime la capacità di depolarizzazione spontanea (automaticità) delle fibre cardiache di molti animali da esperimento. Nell'uomo la lorcainide, come molti altri antiaritmici, non altera la funzione sinusale nei soggetti sani, ma può determinare anche grave peggioramento della conduzione e/o dell'automatismo in pazienti con disfunzione sinusale.

La somministrazione cronica per via orale di l. produce effetti elettrofisiologici differenti rispetto a quanto determinato in acuto per via venosa o orale. Durante la terapia cronica infatti si osserva un più rilevante allungamento dell'intervallo PR (sia per allungamento di AH, ma soprattutto di HV), del QRS e del QT. Tale effetto è dose-dipendente. Anche i periodi refrattari effettivi sia atriale che ventricolare vengono allungati più durante la terapia cronica che acuta. Tali differenze sono dovute all'effetto elettrofisiologico aggiuntivo del principale metabolita della l.: la norlorcainide, anche se questo sembra avere una potenza antiaritmica che è solo 1/3 della l.

La l. deprime la velocità di conduzione e allunga il periodo refrattario effettivo anche delle vie accessorie atrioventricolari nella sindrome di Wolff-Parkinson-White, sia in senso anterogrado che retrogrado.

### Farmacocinetica

Il farmaco dato *per os* impiega diversi giorni per raggiungere concentrazioni plasmatiche di stato stazionario (*steady state*), mentre possono essere rapidamente ottenute concentrazioni plasmatiche efficaci con carico venoso (v. sotto). In alcuni pazienti, piccoli incrementi di dosaggio possono produrre sproporzionati aumenti delle concentrazioni plasmatiche.

La l. è estesamente metabolizzata dal fegato e solo una minima percentuale è escreta immodificata nelle urine. La biodisponibilità aumenta con la dose e la durata del trattamento, per saturazione dell'effetto di primo passaggio epatico. Il principale metabolita, la norlorcainide, raggiunge concentrazioni plasmatiche circa doppie della l. durante terapia cronica, e possiede una emivita 3 volte maggiore. Proprio alla sua attività aggiuntiva è in parte da imputare l'ampia variabilità dei livelli terapeutici della l. riportata in letteratura.

Nell'insufficienza epatica la emivita della l. aumenta del 50-100% e così pure in caso di scompenso cardiaco cronico, per cui aggiustamenti di posologia vanno considerati in pazienti con cirrosi e/o scompenso cardiaco. Anche l'età avanzata sembra comportare un allungamento della emivita del farmaco.

### Efficacia antiaritmica

*Aritmie ventricolari*

La l. è in grado di ridurre di oltre il 50% i battiti prematuri ventricolari complessi nel 70-80% dei pazienti trattati. Una parte dell'efficacia a breve termine si perde nel trattamento a lungo termine. L'efficacia terapeutica della l. nell'abolire le recidive di tachicardia ventricolare e/o fibrillazione ventricolare è invece molto variabile nel trattamento acuto durante lo studio elettrofisiologico, ed è dell'ordine del 20-40% negli studi in cronico.

Pur dovendo tenere conto delle limitazioni dovute all'esiguità degli studi comparativi con altri farmaci antiaritmici, la l. sembra offrire sostanziale equivalenza di efficacia rispetto ad aprindina, lidocaina, mexiletina e procainamide.



Digitized by Google

*Aritmie sopraventricolari*

Gli studi di efficacia della l. sulle aritmie sopraventricolari sono pochi, ma il farmaco sembra non particolarmente utile nel trattamento acuto della fibrillazione e del *flutter* atriali, se non per il fatto che riduce la frequenza della risposta ventricolare per la sua azione di freno sul nodo atrioventricolare. Mancano studi di profilassi di fibrillazione e *flutter* atriali con l.

Il farmaco è invece potenzialmente utile nella sindrome di Wolff-Parkinson-White, in quanto in grado di rallentare fino al blocco la conduzione sia anterograda che retrograda sulle vie accessorie atrioventricolari.

**Effetti collaterali**

Sono comuni e talora obbligano alla sospensione della terapia.

*Effetti collaterali non cardiovascolari.* – I più comuni sono i disturbi del sonno: associati anche a dosaggi bassi (25 mg/*b.i.d.*), essi tendono a regredire con la terapia cronica e rispondono alle usuali terapie con benzodiazepine. Altri effetti indesiderati descritti sono nausea, disturbi gastrointestinali, cefalea, ansietà, tremori, stordimento, sudorazione eccessiva.

*Effetti collaterali cardiovascolari.* – A parte l'effetto proaritmico comune a tutti gli antiaritmici (descritto per la l. in percentuale oscillante tra l'8 e il 23% dei pazienti trattati), la l. può causare disfunzione sinusale, disturbi di conduzione nodale e sottonodale. Occasionalmente è stato descritto peggioramento della funzione ventricolare sinistra.

La l. determina una moderata riduzione della contrattilità specie se somministrata per via venosa. Tale effetto, poco significativo nei soggetti normali, può precipitare un'insufficienza cardiaca in pazienti con disfunzione ventricolare sinistra.

**Indicazioni**

La l. è potenzialmente utile nei pazienti con battiti prematuri ventricolari sintomatici; meno sicura è la sua attività in caso di tachicardia o fibrillazione ventricolari recidivanti. Potenziale beneficio può offrire in caso di sindrome di Wolff-Parkinson-White e di tachicardia reciprocante giunzionale, mentre mancano dati clinici in pazienti con fibrillazione o *flutter* atriali ricorrenti.

**Posologia**

I *dosaggi* vanno individualizzati sulla base della tollerabilità individuale e della efficacia terapeutica.

Via venosa: il dosaggio iniziale (carico) è di 2 mg/kg in 10-60 min, con velocità di infusione intorno a 10 mg/min. Il mantenimento è di 0,18-0,27 mg/kg/h aumentabile fino a 0,33 mg/kg/h.

Via orale: la dose di partenza è usualmente 100 mg/*b.i.d.*, ma la dose efficace nella maggioranza dei pazienti può variare da 100 a 400 mg/*die* con massimo di 600 mg/*die*. Almeno 4-5 giorni sono necessari per raggiungere lo *steady state* sia di l. che di norlorcainide, per cui incrementi di dosaggio non devono essere fatti con cadenze meno che settimanali.

**Bibliografia**

Eiriksson C. E., Brogden R. N., *Drugs*, 1984, **27**, 279.
Harrison D. C., *Drugs*, 1986, **31**, 93.
Michelson E. L., Dreifus L. S., *Med. Clin. North Am.*, 1988, **72**, 275.
Podrid P. J., *Drugs*, 1985, **29**, 33.
Vaughan Williams E. M., *Classification of Antiarrhythmic Drugs*, in Sandoe *et al.* eds., *Cardiac Arrhythmias*, 1970, Ad Astra, Sodertalje, Sweden, pp. 449-473.

AUGUSTO CAVALLI

**LOSPALLUTO-MELTZER, SINDROME DI**: V. CRIOGLOBULINEMIE* (col. 1906).

**LOVASTATINA**: V. IPOCOLESTEROLEMICI FARMACI* (col. 4053).

**LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO** [v. vol. VIII, col. 2409]

SOMMARIO



**Premessa**

Nel corso degli ultimi anni, le più rilevanti acquisizioni sul lupus eritematoso sistemico [LES] hanno riguardato, da un lato, alcuni aspetti dell'etiopatogenesi (ruolo dei fattori genetici, difetti dell'immunoregolazione, etc.) e, dall'altro, l'individuazione e la caratterizzazione, nell'ampio spettro della malattia, di peculiari sottotipi clinico-immunologici.

È a tali argomenti che si atterrà l'aggiornamento del testo del vol. VIII, col. 2409.

**Aspetti etiopatogenetici**

*Fattori genetici*

Fin dagli anni '70, numerosi studi popolazionistici e familiari hanno chiaramente indicato come una base genetica (la cosiddetta «diatesi lupica») sia di primaria importanza nell'etiopatogenesi del LES. Tale concetto è stato ulteriormente rafforzato da vari studi gemellologici, i quali hanno dimostrato che la concordanza per le anomalie cliniche e/o sieroimmunologiche proprie del LES è significativamente superiore (69%) nei gemelli monozigoti che in quelli dizigoti e che, in questi ultimi, il rischio di malattia non risulta maggiore di quello dei familiari di primo grado dei soggetti colpiti.

Il più moderno approccio alla valutazione delle influenze genetiche nella patogenesi del LES è peraltro offerto dagli studi sulle associazioni della malattia (o di equivalenti espressioni autoanticorpali) con antigeni (o aplotipi) del sistema maggiore di istocompatibilità (MHC) (v. ISTOCOMPATIBILITÀ; ISTOCOMPATIBILITÀ*). In effetti, negli ultimi due decenni sono stati raccolti molti dati (all'inizio apparentemente discordanti, in seguito più chiari) relativi al genotipo HLA dei pazienti con LES. È in particolare emerso che gli aplotipi A1,B8,DR3 e A3,B7,DR2 ricorrono con maggior frequenza nei soggetti con LES rispetto ai controlli. Attualmente si ritiene che, come in altre malattie autoimmuni, l'associazione realmente significativa sia quella con alcuni alleli della regione HLA-D (e, in particolare, della sottoregione HLA-DR). Questi infatti codificano per gli antigeni di istocompatibilità di classe II, i quali svolgono, com'è noto, un ruolo fondamentale nella «presentazione» dell'antigene e, più in generale, nell'induzione e nella regolazione della risposta (auto)immune. In tale luce, l'associazione del LES con antigeni di istocompatibilità di classe I (in particolare HLA-A e HLA-B), cui si attribuiva inizialmente un significato autonomo, viene oggi sostanzialmente considerata come un epifenomeno dovuto alla condizione di *linkage disequilibrium* (v. GENETICA MEDICA*) esistente fra alcuni alleli dei *loci* A e B e, rispettivamente, della regione D (v. anche: HLA*).

In realtà è stato recentemente chiarito che, a differenza di quanto ritenuto fino a pochi anni or sono, l'associazione



Digitized by Google

del LES-malattia con gli antigeni DR2 e DR3 è piuttosto debole (tale da comportare un valore di rischio relativo, per ciascuno dei due alleli, non superiore a 2-3). Più stretta e significativa appare invece l'associazione di tali determinanti (in particolare DR3) con specifici autoanticorpi antiribonucleoproteici: gli anti-Ro(SS-A) e, in subordine a questi, gli anti-La(SS-B). Tali autoanticorpi non sono peraltro esclusivi del LES, ma si rinvengono anche in varie altre condizioni autoimmuni, fra cui in primo luogo la sindrome di Sjögren primaria. Analogamente a quanto accade in quest'ultima forma morbosa, anche nel LES, il maggior titolo sierico di anti-Ro e di anti-La si osserverebbe nei pazienti con eterozigosi HLA-DQ1/DQ2, probabilmente per effetto di un'interazione sinergica fra i due alleli suddetti, ovvero tra alleli di *loci* vicini (tra cui, forse, lo stesso DR3) ad essi associati in disequilibrio di legame.

Un aspetto particolare dei rapporti fra LES e geni HLA-D è costituito dall'associazione che sembra esistere fra la comparsa della nefropatia lupica e la presenza di alcuni alleli (peraltro non ancora ben definiti) del *locus* DQ. Di significato ancora incerto sono altre associazioni riscontrate nel LES fra autoanticorpi ed alleli HLA-DR (ad es., fra anticorpi anticardiolipina e DR7 o fra anti-RNP/Sm e DR4). Almeno per il momento, non è invece segnalata alcuna associazione fra specifiche configurazioni genetiche e autoanticorpi anti-DNA. Ciò nemmeno quando si prendano in considerazione i soli autoanticorpi anti-DNA nativo, altamente specifici del LES.

Tra i fattori di istocompatibilità coinvolti nell'etiopatogenesi del LES, la maggiore importanza viene attualmente attribuita ai geni HLA di classe III, che codificano per le frazioni del sistema complementare indicate come Bf (via alternativa), C2, C4A e C4B (via classica). Soprattutto significativo sembra il ruolo svolto dal gene *C4A*. Infatti, la presenza in questo *locus* dell'allele *C4A.Q0* o «null» (vengono designati come «null» [nulli] gli alleli che condizionano la mancata espressione della rispettiva proteina) determina un rischio relativo per LES pari a 3 nella condizione eterozigote e a 24 in caso di omozigosi. Reciprocamente, è stato osservato che oltre l'80% dei soggetti con LES possiede almeno un allele nullo per C4 o C2, mentre ciò si verifica soltanto nel 35-40% della popolazione generale. Si suppone che la carenza ereditaria di fattori del complemento possa favorire l'insorgenza del LES ostacolando la solubilizzazione e l'eliminazione degli immunocomplessi, dei quali è oggi noto il ruolo centrale nella patogenesi della malattia.

Nel braccio corto del cromosoma 6, i geni HLA di classe III sono situati in stretta prossimità della regione HLA-D (per l'esattezza tra i *loci* B e DR) ed alcuni dei loro alleli presentano un forte disequilibrio di legame con quelli che occupano alcuni *loci* di tale regione. Per es., il gene nullo responsabile del deficit ereditario di C2 si trova in disequilibrio di legame con l'aplotipo A10,B18,DR2, il quale a sua volta è significativamente associato al LES.

Esiste altresì una positiva associazione tra LES e alleli nulli (Q0) ai *loci* C4A e, forse, C4B. Le analisi di tipo statistico e gli studi condotti nei pazienti D3-negativi sembrano anzi indicare che la stessa associazione tra LES e HLA-DR3 sia secondaria a quella che la malattia ha con l'allele C4A.Q0 (il quale costituirebbe pertanto l'autentico marcatore genetico dell'affezione).

Analoghe considerazioni sembrano potersi formulare nel caso del LES farmaco-indotto, del quale è nota da tempo l'associazione con la specificità HLA-DR4. Sembra infatti dimostrato che, almeno nel caso del LES da idralazina, la reale associazione abbia luogo con un allele C4B nullo (*C4B.Q0*), a sua volta associato, in *linkage disequilibrium*, al DR4. In questa variante di LES, secondo l'attuale interpretazione, un più o meno grave difetto di C4 di origine genetica (omo- o eterozigosi per *C4B.Q0*) si sommerebbe a una certa attività anticomplementare posseduta dal farmaco, interferendo negativamente con la solubilizzazione e/o con la rimozione dal circolo degli immunocomplessi (che così indurrebbero, a livello tessutale, persistenti alterazioni flogistiche).

Di notevole interesse appare anche la recente individuazione, nella grande maggioranza dei pazienti con LES, di un'anomalia genetica (trasmessa come carattere autosomico dominante) che condizionerebbe la presenza, nei nuclei cellulari, di un eccesso di DNA a basso peso molecolare. Sembra in effetti plausibile (fatta salva la necessità di adeguate conferme sperimentali) che tale DNA anomalo abbia proprietà autoantigeniche e possa quindi indurre la formazione di autoanticorpi antinucleari. Come nel caso di altre malattie autoimmuni, non è invece chiaro se ad una condizione di aumentata suscettibilità biologica al LES possano contribuire i geni del fattore di necrosi tumorale (anch'essi appartenenti alla regione HLA) o quelli che codificano per il recettore antigenico presente sui linfociti T o per gli allotipi immunoglobulinici Gm o Km.

Nel complesso, il quadro dei fattori genetici implicati nell'etiopatogenesi del LES appare tuttora lungi dall'essere definito. Globalmente considerati, tuttavia, gli studi sin qui condotti, sia nei modelli animali che nel LES umano, indicano concordemente che numerosi geni — in parte legati e in parte non correlati all'MHC — condizionano la suscettibilità alla malattia nonché la sua variabile espressività clinico-biologica. È infatti probabile che alcuni geni intervengano nell'esaltata produzione (auto)anticorpale propria del LES, che altri possano aumentare la suscettibilità alle infezioni e l'espressione di antigeni (anche virali) sulle superfici cellulari e che altri ancora possano modificare le complicate interazioni cellulari e molecolari che hanno luogo nell'ambito del sistema immunitario. Infine, la stessa varietà interindividuale delle manifestazioni cliniche del LES sembra poter essere ricondotta, almeno in parte, alla presenza, nei vari pazienti, di differenti (e non ancora identificate) combinazioni di geni.

*Difetti dell'immunoregolazione*

Come sopra accennato, una delle principali modalità con cui i fattori genetici intervengono nell'etiopatogenesi del LES è costituita dalle anomalie dell'omeostasi immunitaria che essi a vario livello determinano.

1. I principali disordini dell'immunoregolazione sin qui riportati nel LES animale e/o umano sono indicati nella tab. 1.

Il concetto oggi prevalente è quello secondo cui il maggior disordine immunoregolatorio del LES risiede in una *eccessiva proliferazione, differenziazione e attività delle cellule* B che porta, nella maggior parte dei casi, ad ipergammaglobulinemia e alla formazione di autoanticorpi. Nei pazienti con LES in fase attiva il numero delle cellule B secernenti IgG e IgA è approssimativamente 10 volte superiore rispetto a quello dei soggetti normali. Inoltre, i linfociti di sangue periferico di soggetti con LES producono spontaneamente fattori di crescita delle cellule B (*B cell growth factors*) in quantità comparabili a quelli prodotti da linfociti normali stimolati con mitogeni (*pokeweed*): l'aumentata proliferazione B cellulare caratteristica del LES potrebbe pertanto rappresentare, almeno in parte, la conseguenza di una «autostimolazione». In questa luce, il LES può essere visto come un disordine linfoproliferativo, in cui la proliferazione policlonale — la quale, peraltro, conduce alla formazione di autoanticorpi di ristretta eterogeneità idiotipica — rappresenta il carattere differenziale rispetto alle malattie linfoproliferative maligne.





Digitized by Google

**TAB. I. DIFETTI DELL'IMMUNOREGOLAZIONE NEL LES (*)**

**Compartimento delle cellule staminali**
esaltata crescita e proliferazione nelle fasi attive (forse secondaria a difetti di immunoregolazione T).

**Compartimento delle cellule B**
iperattività primaria, geneticamente determinata, che dà luogo ad eccessiva e sregolata attivazione, proliferazione e differenziazione policlonale delle cellule B
iperattività secondaria (correlata a difetto di soppressione T, ad ipersecrezione di fattori *helper* liberati da cellule T, all'effetto di altri attivatori policlonali esogeni o endogeni e, forse, a difetti di soppressione allotipica e idiotipica)

**Compartimento delle cellule T**
ridotto numero di cellule T
perdita e disfunzione di precursori post-timici
deficitaria attività T-soppressoria
aumentata produzione T di fattori di differenziazione per le cellule B
alterata formazione di recettori per l'interleuchina 2 (IL-2) sulle cellule CD4⁺
ridotta secrezione di IL-2 da parte delle cellule CD4⁺
ridotta produzione di fattori timici
ridotta induzione dell'ipersensibilità cutanea ritardata
depressa tossicità T-cellulare indotta da mitogeni
alterata attività dell'interferone

**Compartimento delle cellule accessorie**
alterata funzione delle cellule presentatrici dell'antigene
alterata ADCC (citotossicità cellulo-mediata anticorpo-dipendente)
ridotta attività NK (cellule *killer* naturali)
ridotta sensibilità delle cellule NK all'interferone
ridotta produzione di interferone da parte delle cellule mononucleate

**Compartimento degli eritrociti**
deficit di recettori per C3b e C4b (CR1), o recettori per l'immunoaderenza, sulle emazie dei soggetti con LES (difetto genetico o acquisito?)

(*) Molti dei difetti sopra ricordati sono meglio documentabili nei modelli murini di LES.

**TAB. II. ESEMPI DI ATTIVATORI POLICLONALI DELLE CELLULE B**

Alcuni virus e componenti virali (EBV, antigene gp70 di virus RNA, morbillo)
Alcuni parassiti (*Trypanosoma congolense, T. cruzi, Plasmodium malariae*)
Micoplasmi
Lipopolisaccaridi batterici
PPD
Proteina A stafilococcica
*Nocardia* (mitogeno solubile in acqua)
Proteina associata al lipide A
2-mercaptoetanolo
α-tioglicerolo
Linfochine di derivazione macrofagica e T-linfocitaria
Frammento Fc delle IgG
Enzimi proteolitici (ad es., tripsina)
Poliamoni (ad es., destrano solfato)
Alcuni antibiotici (ad es., nistatina, amfotericina B)
Lanatoside C

Nonostante le numerose indagini effettuate, le basi cellulari e molecolari di tale iperattività B sono tuttora poco conosciute. Le principali ipotesi, alcune delle quali confortate da un numero sufficiente di indagini condotte sia nei modelli animali che nella malattia dell'uomo, sono riportate nella fig. I (v. sotto, coll. 4723-4724).

Un difetto intrinseco, geneticamente programmato, delle cellule B è stato dimostrato nel LES murino ed è probabile che intervenga anche nel LES umano.

I geni che predispongono all'attivazione B-cellulare non sono stati, tuttavia, caratterizzati. Recenti studi preliminari sembrano indicare che l'attivazione sequenziale di più geni dà origine a proteine regolatrici che agiscono all'interno del nucleo. Alcuni di tali geni sono oncogèni cellulari, e nel LES umano è stata riscontrata l'espressione preferenziale di determinati oncogèni, in particolare: *c-myc*, *c-myb* e *c-raf*. I linfociti B esprimono questi oncogèni a livelli molto più elevati rispetto ai linfociti T. Nel LES in fase acuta, inoltre, l'espressione degli oncogèni è significativamente più elevata se paragonata a quella che si verifica nel LES in fase di remissione, ad indicare, verosimilmente, che durante le fasi acute si ha una maggiore attivazione B-cellulare. Alternativamente — o in aggiunta — nei soggetti con LES potrebbe mancare un gene assimilabile al gene *xid*, il quale conferisce resistenza genetica allo sviluppo del LES nei topi. Anomalie dell'attività T-cellulare — eccessiva funzione delle cellule con fenotipo *helper* (CD4⁺) o deficitaria attività T-soppressoria (CD8⁺) — sono documentabili in alcuni pazienti con LES ma mancano, almeno apparentemente, in altri.

Le cellule B autoreattive possono essere attivate, in assenza della cooperazione con le cellule T, da molteplici sostanze endogene o esogene, note come attivatori policlonali, il cui numero diviene sempre maggiore: particolare importanza, tra questi, assumono alcuni microrganismi e loro componenti (tab. II).

Difetti della soppressione idiotipica sono stati ben documentati nei modelli animali e anche nei pazienti con LES in fase attiva è stata rilevata l'assenza di autoanticorpi rivolti verso l'idiotipo degli anticorpi anti-DNA.

Difetti a carico delle cellule presentatrici dell'antigene sono dimostrabili in una certa percentuale di pazienti con LES, e ciò potrebbe rappresentare un'ulteriore causa di iperattività delle cellule B.

Vari fattori (virus, sostanze chimiche, medicamenti) potrebbero legarsi a determinanti antigenici delle cellule B, le cellule T-autologhe potrebbero riconoscere questi determinanti alterati, congiuntamente a strutture codificate dal sistema maggiore di istocompatibilità, e reagire quindi contro le cellule B in maniera analoga ad una *graft-versus-host reaction* («effetto allogenico»).

Alcuni antigeni, denominati *antigeni T-indipendenti*, sono in grado di stimolare le cellule B anche in assenza della cooperazione T: si tratta, in genere, di molecole nelle quali uno o più determinanti antigenici (o epitopi) sono espressi in maniera ripetitiva, come, ad es., negli antigeni esogeni polimerici. La ripetitività di epitopi sulla molecola del DNA potrebbe produrre analogo effetto.

Le immunoglobuline presenti alla superficie delle cellule B autoreattive potrebbero avere *idiotipi cross-reattivi* con gli idiotipi di anticorpi rivolti verso un microrganismo. In tal caso, un'infezione sostenuta da quel particolare agente biologico potrebbe suscitare la formazione di cellule T-*helper* rivolte verso l'idiotipo, e ciò potrebbe condurre all'attivazione delle cellule B autoreattive che portano l'idiotipo specifico. Ad es., è stata segnalata una cross-reattività tra l'idiotipo degli anticorpi rivolti verso il polisaccaride K30 di *Klebsiella* e l'idiotipo di anticorpi anti-DNA.



Digitized by Google

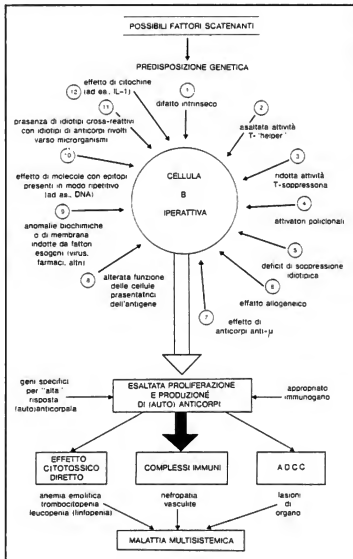



Fig. 1. Schema semplificato e ipotetico della patogenesi del LES. L'immunodisregolazione T-cellulare e gli altri fattori potenzialmente capaci di indurre un'iperreattività delle cellule B possono agire da soli o, più frequentemente, in varia combinazione tra loro.

Infine, le cellule B autoreattive possono essere attivate da *citochine endogene*, come, ad es., l'interleuchina-1 (IL-1) che può essere prodotta, tra l'altro, da cellule cutanee stimolate con radiazioni U.V.

Le molteplici anomalie dell'immunoregolazione sopra ricordate potrebbero intervenire o isolatamente o in varie combinazioni tra loro. In realtà, i dati più recenti indicano che il LES rappresenta un disordine eterogeneo per quanto riguarda la genetica, le basi cellulari e molecolari e l'espressione delle manifestazioni cliniche. In accordo con Theofilopoulos e Dixon, il LES murino — e, probabilmente, anche quello umano — può essere suddiviso in almeno due principali sottogruppi: il *LES di tipo I*, caratterizzato da un difetto intrinseco (geneticamente programmato) delle cel-

lule B, con conseguente eccessiva e mal controllata attivazione, proliferazione e differenziazione policlonale delle cellule B; e il *LES di tipo II*, nel quale le cellule B sono normali, ma cronicamente stimolate a proliferare e secernere immunoglobuline da parte di fattori *helper* liberati da cellule T o di altri fattori.

Anche il LES umano è stato suddiviso in differenti sottogruppi, soprattutto in relazione all'eterogeneità delle sottopopolazioni immunoregolatorie T-cellulari; Smolen *et al.*, ad es., hanno suddiviso i pazienti con LES in 3 gruppi a seconda che il rapporto CD4/CD8 fosse normale, ridotto o aumentato. Indubbiamente, definire il preciso difetto cellulare può contribuire ad ottimizzare il trattamento in un definito paziente. Nei modelli murini, ad es., la timectomia neonatale induce la «guarigione» dal LES negli animali di ceppo MRL/*lpr*/*lpr*, mentre non ha nessun effetto sul LES del ceppo NZB/W ed aggrava la malattia nel ceppo BXSB.

2. In termini di meccanismo di danneggiamento tessutale, il LES viene considerato come un esempio prototipico di *malattia da complessi immuni*.

In realtà, immunocomplessi (IC) circolanti sono svelabili, mediante una larga varietà di metodiche, nella grande maggioranza dei soggetti con LES. Gli studi di caratterizzazione indicano, nonostante alcune voci critiche, che tali immunocomplessi sono in gran parte costituiti da DNA e anticorpi anti-DNA. Mediante tecniche immunoistologiche dirette, DNA (sia a singola che a doppia elica), anticorpi anti-DNA e complemento possono essere localizzati nei reni di pazienti con LES, come pure in altre sedi di lesione. Alcuni anticorpi anti-DNA sembrano esplicare «effetto nefritogeno» maggiore rispetto ad altri anticorpi anti-DNA, forse grazie ad un più elevato legame alle membrane basali glomerulari, con carica elettrica negativa: gli anticorpi anti-DNA nefritogeni sembrano appartenere prevalentemente all'isotipo IgG2b e sono capaci di attivare il complemento per la via classica. Secondo ricercatori israeliani, nel LES umano gli anticorpi anti-DNA patogeni sarebbero quelli contrassegnati da un idiotipo comune, definito come 16/6. L'immunizzazione di topi BALB/c (non geneticamente predisposti allo sviluppo del LES) con l'idiotipo 16/6 induce una malattia del tutto simile dal punto di vista clinico, laboratoristico e sieroimmunologico, al LES umano. Analoghe manifestazioni sono state riscontrate in topi immunizzati con anticorpi monoclonali di topo rivolti verso l'idiotipo 16/6. È stato così ipotizzato che gli anticorpi rivolti verso l'idiotipo 16/6 degli anticorpi anti-DNA rivestano un ruolo primario nel determinismo del LES.

Si ritiene comunemente che i complessi immuni circolanti rimangano intrappolati nelle anse glomerulari, dove fissano il complemento. Tuttavia, nell'animale da esperimento è stato osservato che gli immunocomplessi circolanti si depositano soltanto a livello mesangiale, e non, salvo particolari accorgimenti sperimentali, nelle membrane basali e, soprattutto, negli spazi subepiteliali. Una possibilità alternativa — e forse più valida — è che il DNA si fissi selettivamente alle membrane basali glomerulari, ivi «intrappolando» anticorpi anti-DNA liberi; tale formazione *in situ* di IC sembra rappresentare il più probabile meccanismo di lesione nella glomerulonefrite membranosa lupica. Inoltre, il DNA fissato alle membrane basali potrebbe teoricamente dar luogo a processi flogistici attraverso altre due modalità che non comportano la presenza di anticorpi specifici: l'attivazione diretta del complemento attraverso la via alternativa e l'intrappolamento *in loco* di Clq con conseguente attivazione per la via classica. Anche la carica elettrica dell'antigene, dell'anticorpo e del complesso immune antigene-anticorpo sembra rivestire importanza: i complessi immuni dotati di carica elettrica positiva vengono infatti attratti dalle membrane basali glomerulari, dotate di siti elettronegativi, in maniera assai maggiore dei complessi dotati di carica elettrica negativa.

Complessi antigene-anticorpo differenti dal DNA-anti-DNA (o da altri antigeni nucleari e rispettivi anticorpi) potrebbero assumere un ruolo patogenetico. Ad es., nel LES murino IC costituiti da gp70 (la maggiore glicoproteina virale del retrovirus endogeno RNA tipo-C) e da anticorpi anti-gp70 sono implicati nella patogenesi della nefropatia, dell'arterite necrotizzante e delle lesioni del plesso coroideo. Nell'uomo, dati diretti a favore di una responsabilità patogenetica di IC costituiti da antigeni virali e rispettivi anticorpi tuttora mancano. Tuttavia, in uno studio condotto in una regione con elevata frequenza di portatori del virus B dell'epatite, l'HBsAg è stato identificato in 30 dei 47 campioni bioptici di rene provenienti da soggetti con LES e soltanto in 8 dei 201 campioni di rene provenienti da pazienti affetti da altre forme di nefrite. La possibilità, pertanto, che IC virus-antivirus concorrano nel determinismo della nefropatia lupica umana (e, forse, di lesioni ad altri livelli) non può essere esclusa.

3. Relativamente scarse sono le nozioni relative alla sequenza di eventi che consegue alla deposizione di IC a livello renale, cutaneo o di altre sedi. Sicuramente il complemento viene attivato, forse sia attraverso la via classica che quella alternativa, e nelle sedi coinvolte sono riscontrabili vari tipi cellulari. Le lesioni infiammatorie nel LES rappresentano probabilmente la conseguenza di una serie di processi di attivazione sequenziale. Componenti del complemento e, probabilmente, linfochine liberate da linfociti T sensibilizzati inducono il reclutamento di altri tipi cellulari (neutrofili, monociti, forse anche eosinofili e mastociti) i quali, a loro volta, liberano mediatori della flogosi; tali mediatori inducono lesioni (ad es., a carico delle membrane basali) che permettono l'ulteriore deposizione *in situ* di antigeni liberi, di anticorpi liberi o di complessi antigene-anticorpo. Si crea, in tal modo, un circolo vizioso che porta all'automantenimento delle alterazioni flogistiche.

Come già ricordato, è possibile ipotizzare che nei LES il danneggiamento mediato da IC possa rappresentare, almeno in parte, il risultato di un'alterata clearance degli IC stessi. Nei pazienti con LES, la dissoluzione complemento-dipendente degli IC è in effetti ridotta (forse a causa di un deficit ereditario di complemento) e ciò potrebbe facilitare la loro persistenza in circolo o nelle sedi di deposito. Alcuni studi hanno dimostrato che nei pazienti con LES la clearance di IC costituiti da eritrociti autologhi rivestiti di IgG è ritardata, forse a causa di un'alterata attività funzionale dei macrofagi e delle altre cellule del sistema reticoloendoteliale. Questi studi, tuttavia, sono stati effettuati con IC costituiti da un antigene particolato (gli eritrociti). Indagini condotte nel LES murino hanno per contro posto in evidenza che la clearance di IC formati da un antigene solubile (e dal rispettivo anticorpo) è normale, per cui ulteriori dati sono necessari sull'argomento.

Negli ultimi anni è stato dimostrato che gli eritrociti normali possiedono recettori di superficie per le componenti C3b e C4b (CR1) del complemento e si ritiene attualmente che tali recettori abbiano un ruolo importante per il legame e la clearance degli IC. Nel 1981 un gruppo di ricercatori giapponesi (Miyakawa *et al.*) per primo ha dimostrato che gli eritrociti dei pazienti con LES sono incapaci di legare, nel 70% circa dei casi, le gammaglobuline umane aggregate, a causa di un deficit di CR1. Sulla base di indagini familiari, gli stessi ricercatori hanno ipotizzato che tale deficit potesse essere geneticamente trasmesso e che potesse rivestire un ruolo predominante nell'alterata clearance degli IC dei pazienti con LES. Studi più recenti, tuttavia,





Digitized by Google

tendono ad indicare che il deficit di CR1 può variare nel corso del tempo (alcuni pazienti con attività CR1 ridotta in un determinato momento possono acquisirla successivamente e viceversa) e che probabilmente la difettosa espressione dei recettori dell'immunoaderenza non è geneticamente trasmessa, bensì è in gran parte, se non totalmente, acquisita. Ciò probabilmente è la conseguenza di un'attivazione *in vivo* del C3.

Nella nefropatia lupica murina le cellule infiammatorie sono in larga prevalenza rappresentate da linfociti T, e a tali tipi cellulari è stato attribuito un ruolo non secondario nel determinare il danno renale. Ulteriori studi sono tuttavia necessari in questo settore.

*Fattori virali*

Da vari decenni si suppone che non precisati agenti virali possano intervenire nell'etiopatogenesi del LES in veste di fattori scatenanti o aggravanti. Tale ipotesi ha in larga misura tratto origine da osservazioni condotte nei topi ibridi di ceppo NZB/NZW, i quali sviluppano, com'è noto, una malattia LES-simile strettamente correlata (se non direttamente dovuta) a retrovirus xenotropici di tipo C. Nel LES umano, per la verità, il diretto intervento di un virus non è mai stato dimostrato, forse a causa di difficoltà tecnico-metodologiche. In ogni caso, vari dati clinici e sperimentali, alcuni dei quali acquisiti negli ultimi anni, fanno ritenere che nell'etiopatogenesi del LES (come del resto in quella di altre malattie autoimmuni [v.]) diversi virus possano svolgere, se non altro, un ruolo di cofattori.

1. *Modelli animali del LES.* – Il ruolo etiopatogenetico che i retrovirus C potrebbero svolgere nella malattia simil-lupica dei topi NZB/NZW era stato qualche anno fa alquanto ridimensionato. Era infatti emerso: *a*) che alcuni ceppi di topi derivati da incroci degli NZB, pur esprimendo i virus in quantità uguale ai loro ascendenti, possono non avere segni di autoimmunità; *b*) che, per contro, discendenti virus-negativi di tali topi possono continuare a produrre autoanticorpi; *c*) che i complessi immuni formati dall'antigene virale gp70 e dai rispettivi autoanticorpi (complessi ritenuti importanti nel determinare la nefropatia presente negli animali malati) sono in realtà dimostrabili anche in topi normali.

Il problema è stato però riproposto dall'attuale possibilità di differenziare, mediante sonde oligonucleotidiche, varie classi di retrovirus C. Sembra infatti dimostrato: *a*) che una di queste classi, quella dei retrovirus MCF (*mink cell focus-forming*), sia, a differenza delle altre, strettamente associata al lupus murino; *b*) che l'espressione delle sequenze retrovirali MCF abbia inizio, nei topi NZB, assai prima dell'insorgenza della malattia e non possa quindi costituire un evento a questa secondario.

Oltre a ciò, appare oggi chiaro che alcune infezioni virali croniche possono modificare (per lo più accelerandola) la storia naturale del LES animale. Ad es., le infezioni da virus della coriomeningite linfocitaria, da poliomavirus e da retrovirus inducono (o incrementano) nel topo geneticamente predisposto una formazione di anticorpi antinucleari, cui si associa la comparsa di una malattia LES-simile. Un ulteriore esempio (strettamente analogo al precedente dal punto di vista patogenetico) è rappresentato dalla sindrome autoimmune parvovirus-correlata a cui possono andare incontro i visoni dal manto aleutino.

2. *Dati di patologia umana.* – Come in altre malattie autoimmuni, anche nel LES risulta aumentato il titolo degli anticorpi sierici rivolti contro diverse specie di virus. Recentemente è stata anche dimostrata un'elevata frequenza di anticorpi IgM rivolti verso antigeni dell'HTLV-I. Reciprocamente, in una considerevole frazione di pazienti affetti da malattie virali (mononucleosi infettiva, malattia da CMV, epatiti A, B, C e δ, sindromi influenzali, adenovirosi, coxsackiosi, infezione da HIV ed altre) sono, come noto, dimostrabili autoanticorpi circolanti non organo-specifici, molti dei quali caratteristici, anche se non esclusivi, del LES (anti-nucleo, anti-fosfolipidi, anti-gammaglobuline, anti-muscolo liscio, anti-elementi figurati del sangue). Va comunque precisato che queste correlazioni sierologiche, almeno in una parte dei casi, hanno valore di semplici (e transitori) epifenomeni.

Maggior significato potrebbero avere i casi, sia pure non frequenti, in cui la comparsa del LES si verifica subito dopo (e forse a causa di) un'infezione virale acuta, ad es. da EBV o da altri herpesvirus. Di notevole interesse concettuale, benché non ancora confermata, è anche la recente identificazione, nel citoplasma di cellule provenienti da soggetti con LES, di sequenze di DNA HIV-correlato. Un ulteriore elemento che sembra deporre, sia pure in modo indiretto, per un possibile ruolo dei virus nell'etiopatogenesi del LES è la recente dimostrazione che nel siero di un'elevata percentuale dei pazienti lupici sono presenti vari autoanticorpi (quali gli anti-ubiquitina, gli anti-HSP70 e gli anti-HSP90) rivolti contro le proteine HSP (*heat-shock-proteins*), che vengono espresse alla superficie di una vastissima gamma di cellule in seguito a stress di varia natura, comprese le infezioni virali.

Per quanto riguarda i *meccanismi d'azione* con cui gli agenti virali potrebbero innescare i fenomeni autoimmunitari propri del LES (induzione o modificazione di autoantigeni, attivazione policlonale diretta dei linfociti B, mimetismo molecolare, induzione di anticorpi anti-idiotipo, etc.) si rimanda alla voce LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO (VIII, 2426).

*Fattori nutrizionali*

Estesi studi sperimentali condotti sul LES murino hanno posto in evidenza, in maniera inequivocabile, che alcuni fattori nutrizionali possono dilazionare, prevenire o anche far regredire l'espressione di un difetto autoimmune geneticamente determinato.

Il ridotto apporto calorico prolunga la longevità negli animali NZB/W e MRL-1. Una dieta povera di grassi dilaziona l'età di insorgenza del LES negli ibridi NZB/W, mentre una dieta ricca di grassi aggrava la nefropatia da immunocomplessi e induce la morte in età precoce. L'assenza di precursori dell'ac. arachidonico e l'aggiunta di ac. eicosapentaenoico danno luogo ad un sensibile miglioramento delle manifestazioni anatomo-cliniche. Negli animali NZB/W, una dieta basata sulla somministrazione esclusiva di aminoacidi sintetici e del tutto simile, per la restante composizione, alla dieta standard, prolunga il tempo di sopravvivenza e induce una drammatica riduzione degli anticorpi antinucleari, dei complessi immuni circolanti e della proteinuria. Alcuni antigeni alimentari sembrano in grado di indurre una patologia autoimmune: ad es. l'aminoacido L-canavanina, presente in larga quantità nei semi o nei germogli di alfalfa (erba medica) determina nel macaco la comparsa in circolo di anticorpi cross-reattivi con il DNA e di una sindrome simil-lupica caratterizzata da anticorpi antinucleari (ivi compresi gli anti-DNA nativo) a titoli elevati, ridotti livelli di C3 e anemia. Alcuni oligominerali (tra cui, in primo luogo, lo zinco) esercitano profondi effetti sul sistema immunitario, e la carenza di zinco esplica benefici effetti sul LES murino. Anche le vitamine rivestono un ruolo importante nella modulazione delle risposte immunitarie: la vitamina A ritarda la comparsa in circolo di autoanticorpi; la vitamina E, sempre nei topi geneticamente predisposti al LES, preserva le funzioni del sistema immunitario e protegge dal danneggiamento renale; la biotina modula la linfoproliferazione patologica; la vitamina C sembra importante per la vitalità e le funzioni delle cellule fagocitarie; la vitamina $B_{12}$ è il coenzima necessario per la sintesi di DNA.

L'insieme di questi studi indica chiaramente che i fattori alimentari sono in grado di modulare l'espressione dell'autoimmunità nei modelli animali di LES. Ovviamente, i dati sul LES umano sono assai meno numerosi e spesso fra loro contrastanti. Non vi è dubbio, tuttavia, che i possibili rap-





Digitized by Google

porti tra fattori nutrizionali e LES nell'uomo siano meritevoli di ulteriori, più approfondite indagini.

**Sottotipi clinico-immunologici**

*LES neonatale*

1. *Quadro clinico.* – Le principali caratteristiche del LES neonatale sono riportate nella tab. III. Si tratta di una condizione morbosa relativamente rara (la letteratura internazionale ne descrive poco più di 120 casi, anche se questa sicuramente è una sottostima), che colpisce neonati di donne in buona parte asintomatiche, ovvero affette da LES o da un'altra malattia autoimmune (soprattutto sindrome di Sjögren), dando luogo a varie manifestazioni cliniche, di cui alcune a carattere transitorio e altre di tipo permanente.

Tra le prime, che si rendono in genere evidenti nell'arco di poche settimane dopo la nascita e che regrediscono abitualmente entro sei mesi, si annoverano: *alterazioni cutanee eruttive*, in prevalenza localizzate al volto e agli arti, assai simili a quelle del lupus cutaneo subacuto dell'adulto (macchie e placche anulari circoscritte, spesso fotosensibili, con quadro istopatologico di infiltrazione linfocitica e degenerazione colliquativa dello strato basale dell'epidermide); *anomalie ematologiche*, quali leucopenia, trombocitopenia, anemia emolitica autoimmune; *sintomi di miocardiopericardite*; *epatosplenomegalia* (piuttosto rara). Le alterazioni permanenti sono costituite da un particolare tipo di *blocco atrioventricolare congenito* (completo o, meno spesso, incompleto), talora associato a fibroelastosi endomiocardica o a malformazioni cardiache (pervietà duttale, difetti interatriali, trasposizioni). La gravità del blocco atrioventricolare può essere tale da provocare la morte del neonato o da richiedere, nei bambini che sopravvivono, l'impianto di un segnapassi artificiale permanente.

2. *Patogenesi.* – La patogenesi del LES neonatale appare strettamente connessa (se non direttamente dovuta) agli *autoanticorpi anti-Ro(SS-A)*, da soli o associati agli anti-La(SS-B), presenti nel siero della madre e da questa passivamente trasmessi al feto, durante la gravidanza, per via diaplacentare.

In tal senso depongono numerose osservazioni: *a*) gli anticorpi anti-Ro, pur essendo presenti solo in una frazione delle pazienti complessivamente affette da LES (30%) o da sindrome di Sjögren (60%), sono dimostrabili nella quasi totalità delle madri di bambini con LES neonatale; *b*) gli stessi autoanticorpi sono presenti in circolo praticamente in tutti i neonati colpiti (solo in singoli casi si riscontrano, in loro vece, varietà affini di anticorpi anti-ribonucleoproteine, come gli anti-La[SS-B] o gli anti-$U_1$RNP); *c*) dal siero neonatale (nel quale sono inizialmente contenuti in titoli inferiori ma proporzionali a quelli materni) gli anticorpi anti-Ro scompaiono in corrispondenza con la regressione delle manifestazioni transitorie dell'affezione (cioè entro il 6°-8° mese di vita); *d*) nel caso di due gemelli, dei quali uno solo affetto dalla sindrome, gli autoanticorpi anti-Ro risultano presenti in concentrazioni assai maggiori nel gemello colpito che in quello indenne; *e*) con la tecnica dell'*immunoblotting* (v. BLOTTING*) è stato dimostrato che gli anti-Ro reagiscono con un antigene polipeptidico di 60.000 dalton presente in estratti sia di cuore che di cute fetale; *f*) nel tessuto miocardico dei neonati affetti da blocco atrioventricolare congenito si possono osservare depositi di immunoglobuline e di complemento; *g*) in tali neonati, le alterazioni istopatologiche riscontrate nel tessuto di conduzione, possono essere interpretate come esiti di un processo miocarditico (connettivitico?) verificatosi durante la vita intrauterina, *h*) in modelli sperimentali in cui lembi di cute umana (esprimenti l'antigene Ro) vengono trapiantati in topi *nude* (la cui pelle non esprime tale antigene), la successiva somministrazione parenterale di anticorpi anti-Ro determina un'evidente deposizione di immunoglobuline umane solo nella cute trapiantata e non in quella circostante.

**TAB. III. PRINCIPALI CARATTERISTICHE CLINICO-BIOLOGICHE DEL LES NEONATALE**

**Condizioni materne**
- 50% di donne sane
- frequente positività per la specificità HLA-DR3
- frequente positività per gli autoanticorpi anti-Ro(SS-A) e/o anti-La(SS-B)

**Patogenesi**
- passaggio di anticorpi materni nel feto tramite il sistema di trasporto attivo del trofoblasto

**Manifestazioni cliniche**
- alterazioni cutanee di tipo discoide
- pancitopenia
- miocardite, pericardite
- blocco atrioventricolare congenito (completo o incompleto)

**Trattamento intrauterino**
- plasmaferesi
- desametasone

Per quanto sopra esposto, il lupus neonatale sembra costituire un esperimento naturale di LES autoanticorpo-indotto di tipo puramente passivo. Non è stato comunque chiarito, fino ad oggi, per quali ragioni gli anticorpi anti-Ro sarebbero in grado di indurre nel feto alterazioni cardiache e/o cutanee assenti (o non necessariamente presenti) nella madre. Si ipotizza che ciò possa dipendere dal fatto che solo durante alcune fasi dello sviluppo fetale i relativi autoantigeni verrebbero espressi alla superficie delle potenziali cellule «bersaglio» presenti nel miocardio, nella cute e in altri organi. Un'altra possibilità, quantomeno teorica, è che gli anticorpi anti-Ro, essendo rivolti contro complessi ribonucleoproteici implicati nella trascrizione del DNA, interferiscano specificamente con questa funzione cellulare, particolarmente importante durante l'ontogenesi. Appare in ogni caso probabile che l'effetto patogeno di tali autoanticorpi sia condizionato da fattori genetici neonatali (sono note diverse coppie di gemelli dizigoti con un solo gemello colpito da lupus) nonché da fattori esterni (le radiazioni U.V. facilitano la comparsa delle manifestazioni cutanee e aumentano, nei cheratinociti in coltura, l'espressione superficiale dell'antigene Ro).

3. *Aspetti di profilassi e terapia.* – Anche quando nel siero di una gestante affetta da una collagenopatia o in apparente buona salute siano presenti significativi titoli di anticorpi anti-Ro (o anti-La), il rischio di LES neonatale, anche se non esattamente quantificabile, può considerarsi piuttosto basso. Tale rischio, tuttavia, per ragioni non note aumenta, fino a valori del 20-25%, quando la gestante abbia già in precedenza partorito neonati affetti.

In tale evenienza, per prevenire l'instaurarsi nel neonato di un blocco atrioventricolare completo (rilevabile mediante ecocardiografia intrauterina a partire dalla 24ª-28ª settimana di gestazione) si è fatto ricorso alla plasmaferesi materna e alla somministrazione di desametasone. La plasmaferesi, idonea a ridurre, anche se non ad eliminare completamente, gli anticorpi anti-Ro (ed anti-La) presenti nel circolo materno, è stata sperimentalmente impiegata, in donne considerate a rischio, anche prima della comparsa di qualunque segno di blocco cardiaco fetale. La sua reale efficacia nel prevenire questa affezione congenita è comunque ancora da precisare. La somministrazione alla gestante di desametasone (corticosteroide non inattivato a livello della placenta) può attenuare un'eventuale miocardite intrauterina a patogenesi immunitaria, in tal modo evitando





Digitized by Google

alterazioni irreversibili del tessuto di conduzione. Un prolungato impiego del farmaco può peraltro interferire negativamente con lo sviluppo del feto.

*LES ad insorgenza tardiva*

Benché il LES sia tipicamente una malattia delle giovani donne, in una piccola ma non trascurabile parte dei casi (6-20%) esso insorge in soggetti al di sopra dei 50 anni. Pur non differendo radicalmente dal LES classico, questa variante dell'affezione (tab. IV) si distingue, sul piano clinico, per la frequenza relativamente minore delle tipiche alterazioni cutanee, articolari e renali e, viceversa, per un'aumentata frequenza delle manifestazioni polmonari e della poliesocrinopatia autoimmune (sindrome di Sjögren secondaria). Sul piano sierologico, il LES ad insorgenza tardiva risulta contrassegnato dalla particolare frequenza con cui si riscontrano in circolo gli anticorpi anti-Ro(SS-A), che nel LES giovanile sono invece presenti solo in circa un terzo dei casi. Forse proprio in relazione alla frequente presenza di tali autoanticorpi, l'associazione del LES tardivo con gli antigeni di istocompatibilità HLA-DR3 (e DR2) risulta più stretta che di norma (v. sopra: *fattori genetici*). Al contrario, meno frequenti che nel LES classico sembrano essere, per ragioni non chiarite, gli anticorpi anti ds-DNA e l'ipocomplementemia.

Il decorso clinico del LES ad insorgenza tardiva tende ad essere sensibilmente più mite di quello della forma classica, come indirettamente indicano, da un lato, il più lungo tempo che in media intercorre fra i primi sintomi e la diagnosi e, dall'altro, le minori dosi di corticosteroidi abitualmente necessarie per controllare la malattia.

Le ragioni della sia pur relativa «diversità» clinico-biologica del LES ad insorgenza tardiva non sono state finura accertate. È comunque verosimile che ad essa contribuiscano sia fattori ormonali (maggiore «mascolinità» complessiva della popolazione senile), sia la modificata reattività immunitaria propria dell'età avanzata.

*LES neuropsichiatrico*

Del quadro clinico del LES fanno non raramente parte (50% dei casi) disturbi neurologici e psichiatrici di vario genere. Le manifestazioni più frequenti sono costituite da sindromi psicorganiche (o francamente psicotiche) e da convulsioni generalizzate, espressione entrambe di una sofferenza diffusa del sistema nervoso centrale. Possono peraltro verificarsi anche disturbi focali, come *ictus* apoplettici, mielopatie e neuropatie periferiche.

La base immunopatogenetica di tali quadri clinici è stata tradizionalmente identificata con una vasculite da immunocomplessi variamente estesa nell'ambito del sistema nervoso. Gli studi istopatologici condotti negli ultimi anni hanno peraltro dimostrato che nel LES neuropsichiatrico, tale classica forma di vasculite (interessante elettivamente le arteriole e caratterizzata da infiltrazione parvicellulare e necrosi fibrinoide della parete vasale) non è, nel tessuto nervoso, particolarmente frequente e non può quindi spiegare che alcuni dei quadri sintomatologici del neurolupus (ad es. certi casi di *ictus*).

È invece recentemente emersa la potenziale importanza patogenetica di un altro tipo di lesione neurovascolare, cioè di una *vasculopatia non infiammatoria* caratterizzata (come quella di un particolare modello sperimentale di LES murino) da proliferazione dell'endotelio e progressiva obliterazione del lume arteriolare. È stato ipotizzato che tale patologica proliferazione possa essere direttamente o indirettamente causata dagli autoanticorpi anticardiolipina, che si rinvengono nel siero di molti pazienti con LES e che appaiono dotati di reattività crociata nei confronti degli antigeni fosfolipidici dell'endotelio. Secondo tale concezione, anche il LES neuropsichiatrico potrebbe così rientrare, almeno per una parte dei casi, nella *sindrome da anticorpi antifosfolipidi* (v.; v.*; v. anche sotto).

Una diversa interpretazione patogenetica del LES neuropsichiatrico è basata sul possibile ruolo di particolari *autoanticorpi anti-neurone*. Nel siero della maggior parte dei pazienti affetti da LES sono in effetti dimostrabili autoanticorpi capaci di riconoscere *in vitro* antigeni di membrana di diverse linee di neuroni umani in coltura (75% di positività nel caso in cui vengano impiegate come substrato antigenico colture di cellule di neuroblastoma umano SK-N-SH). Tuttavia, la concentrazione e la stessa presenza di tali autoanticorpi sierici non appaiono direttamente correlate, nei singoli soggetti, alla presenza e alla gravità di eventuali alterazioni del sistema nervoso centrale. Viceversa, una significativa correlazione con le manifestazioni neuropsichiatriche sembra esistere nel caso degli anticorpi antineurone (della classe IgG) presenti nel liquor. Un reale effetto neurocitolesivo di tali anticorpi non è stato sicuramente dimostrato nell'uomo, ma va segnalato che in vari modelli animali gli anticorpi rivolti contro le cellule nervose si sono mostrati capaci di indurre disturbi neurologici paragonabili a quelli del LES umano. D'altro canto, un eventuale effetto patogeno di autoanticorpi rivolti contro antigeni della superficie neuronale potrebbe esplicarsi, anche in assenza di evidenti lesioni citologiche, mediante un'interferenza funzionale con le cruciali attività della membrana cellulare. Quanto alle modalità con cui gli autoanticorpi anti-neurone raggiungerebbero nel sistema nervoso concentrazioni efficaci, si ammette la possibilità sia di una produzione *in loco*, sia di un passaggio nel tessuto nervoso (attraverso lesioni microvascolari di varia origine) di anticorpi sierici altrove sintetizzati.

Quest'ultima eventualità trova sostegno nei recenti studi di caratterizzazione delle molecole di membrana contro cui sono rivolti gli anticorpi anti-neurone. Sembra infatti probabile che tali molecole (tuttora non esattamente identificate) condividano molte specificità antigeniche con le glicoproteine del complesso VLA (*very late activation antigens*) presenti sulla membrana dei T-linfociti, glicoproteine contro le quali sono in parte rivolti gli anticorpi antilinfocitari presenti nel LES. Sulla base di tale osservazione appare possibile ipotizzare che alla patogenesi del LES neuropsichiatrico concorrano, in qualche misura, autoanticorpi antilinfocitari (anti-VLA) dotati di reattività crociata nei confronti di antigeni presenti sulla membrana dei neuroni cerebrali.

In letteratura è riportata un'aumentata frequenza di *anticorpi anti-glicolipidi*, in particolare anti-gangliosidi, in alcuni pazienti con disordini neurologici, sia primitivi che associati al LES. Ad oggi, tuttavia, non esiste alcuna sicura dimostrazione che gli anticorpi anti-gangliosidi, riscontrabili anche in una larga varietà di pazienti con malattie extralupiche e senza alcuna affezione neurologica, nonché

TAB. IV. PRINCIPALI CARATTERISTICHE CLINICO-BIOLOGICHE DEL LES AD INSORGENZA TARDIVA

**Aspetti genetici**
- stretta associazione con le specificità HLA-DR3 e/o HLA-DR2

**Caratteristiche cliniche**
- relativa prevalenza nel sesso maschile
- aumentata frequenza di lesioni polmonari (polmonite atelettasizzante, fibrosi) e *sicca syndrome*
- diminuita frequenza di lesioni cutanee, manifestazioni articolari e nefrite

**Caratteristiche immunologiche**
- aumentata frequenza degli autoanticorpi anti-Ro(SS-A) e anti-La(SS-B)
- diminuita frequenza degli autoanticorpi anti-dsDNA e dell'ipocomplementemia



Digitized by Google

in soggetti apparentemente sani, siano realmente capaci di indurre lesioni neurologiche.

Più recentemente è stato identificato un ulteriore autoanticorpo strettamente correlato alla variante psichiatrica pura (tab. V) del LES neurologico. Tale autoanticorpo, indicato come anti-P, risulta specificamente rivolto contro un determinante antigenico presente, a livello ribosomico, nelle subunità fosfoproteiche P0, P1 e P2. Il reale significato patogenetico dell'anticorpo anti-P non è tuttora accertato, ma il fatto che esso risulti presente nel 90% dei casi di psicosi lupica e, viceversa, quasi sempre assente nei soggetti sani e in quelli con altre forme di LES, suggerisce che non si tratti di un semplice epifenomeno. Nello stesso senso sembra deporre il notevole aumento delle concentrazioni sieriche dell'anticorpo (da 5 a 30 volte i valori basali) osservato, in studi longitudinali, durante le fasi di acuzie della psicosi lupica.

*LES con sindrome da anticorpi antifosfolipidi*

Gli anticorpi antifosfolipidi costituiscono una famiglia di autoanticorpi sierici capaci di reagire (nei test immunodiagnostici in fase solida) con varie molecole fosfolipidiche dotate di carica elettrica negativa. Essi comprendono, in particolare, gli *anticorpi anticardiolipina* (ACA), il cosiddetto *anticoagulante lupico* (LAC) e gli anticorpi responsabili delle false reazioni biologiche positive per la lue. Secondo recenti ricerche, le prime due specificità anticorpali risultano appartenere a due distinti sottogruppi antifosfolipidici, separabili mediante frazionamento del plasma in cromatografia a scambio ionico. Benché gli anticorpi antifosfolipidi siano presenti in varie condizioni morbose (e anche in soggetti apparentemente sani), è nel LES che essi si riscontrano con maggiore frequenza (fino al 40-50% di positività quando vengono simultaneamente impiegate più tecniche di rilevazione).

La più nota proprietà biologica degli anticorpi antifosfolipidi è quella di interferire con le prove sierologiche per la sifilide e, nel caso del LAC, con i test emocoagulativi fosfolipidi-dipendenti, come il tempo di tromboplastina parziale attivato e il tempo di veleno di vipera Russell. Tali alterazioni biochimiche e sierologiche spesso non sono accompagnate da alcuna manifestazione clinica. In alcuni casi, peraltro, gli anticorpi antifosfolipidi, e in particolare gli ACA, possono associarsi a una caratteristica sindrome, della quale fanno parte trombosi arteriose e venose (con eventuali gravi quadri di infarto miocardico, apoplessia o embolia polmonare), trombocitnpenia (le piastrine possono scendere al di sotto di 70.000/mm³) e, nella donna in età fertile, ripetuti episodi di aborto o di morte intrauterina del feto. Queste ultime eventualità si verificano, complessivamente, nel 40-50% delle gravidanze di donne affette da LES (contro il 15-30% della popolazione generale) e possono essere ancora più frequenti (fino all'80% dei casi) qundo il titolo sierico delle IgG antifosfolipidi è particolarmente elevato.

I meccanismi con cui nella sindrome da anticorpi antifosfolipidi viene leso il prodotto del concepimento non sono chiari. Nnn appare in particolare documentata, almeno fino ad oggi, l'ipotesi di un passaggio nella circolazione fetale di autoanticorpi di origine materna né quella di estese alterazioni dei vasi placentari. Comincia invece ad affiorare una possibile interpretazione patogenetica della diatesi trombotica. È statn infatti dimostrato che l'antigene, verso cui sono diretti gli anticorpi antifosfolipidi riscontrabili nei pazienti con LES, è costituito da una struttura molecolare complessa, della quale è parte essenziale un protide plasmatico di 50.000 dalton, la *$\beta_2$-glicoproteina-I* (o $\beta_2$-GPI o apolipoproteina H), dotata *in vivo* di attività inibitoria sull'aggregazione piastrinica ADP-dipendente e sulla via intrinseca della coagulazinne. L'aumentata tendenza alla trombosi potrebbe così dipendere da un'interferenza degli anticorpi antifosfolipidi (in particolare degli ACA) su un fisiologico fattore di regolazione emostatica.

**TAB. V. PRINCIPALI CARATTERISTICHE CLINICO-BIOLOGICHE DEL LES PSICHIATRICO**

**Manifestazioni cliniche**
anomalie del comportamento simili a quelle dei disturbi affettivi o della schizofrenia

**Reperti istopatologici**
infrequente il riscontro di una vera vasculite

**Caratteristiche immunologiche**
autoanticorpi anti-fosfolipidi e anti-glicolipidi
autoanticorpi rivolti contro antigeni di membrana dei neuroni (*very late activation [VLA] antigens* sui T-linfociti?)
autoanticorpi rivolti contro la proteina ribosomica P

**TAB. VI. SINDROME DA ANTICORPI ANTIFOSFOLIPIDI**

**Manifestazioni cliniche**

1. *Trombosi*
   venose: trombosi recidivanti delle vene profonde degli arti, delle vene renali, delle vene retiniche; sindrome di Budd-Chiari
   arteriose: infarto del miocardio, *ictus* cerebrale, trombosi dell'armiteria retinica: gangrena da trombosi di arterie periferiche
2. *Aborti*
   aborti multipli, morti fetali intrauterine
3. *Trombocitopenia*
4. *Manifestazioni neurologiche*
   infarto cerebrale, ischemia transitoria, amaurosi, corea, convulsioni, emicrania, mielopatie, atassia cerebellare
5. *Altre eventuali manifestazioni*
   *livedo reticularis*, endocardite verrucosa, anemia emolitica Coombs-positiva, sindrome da *distress* ventilatorio dell'adulto (ADRS), ipertensione polmonare, vasculopatia non infiammatoria diffusa, iposurrenalismo acuto, pre-eclampsia

**Criteri di diagnosi**
La diagnosi di sindrome da anticorpi antifosfolipidi può essere posta in presenza di anticorpi antifosfolipidi a titoli elevati o di LAC (*lupus-like anticoagulant*) e di almeno una delle manifestazioni di cui ai punti 1, 2 e 3 in una qualsiasi fase della malattia. La positività per anticorpi antifosfolipidi dovrà essere confermata almeno due volte nell'arco di 8 settimane.

Un'ulteriore rilevante caratteristica degli anticorpi antifosfolipidi presenti nel LES è quella di risultare spesso associati alle vegetazioni valvolari cardiache che sono talvolta presenti nella malattia (endocardite verrucosa di Libman-Sacks). Non è peraltro chiaro se tale associazione corrisponda ad un reale effetto patogeno degli anticorpi (effetto patogeno che potrebbe in teoria esplicarsi sia direttamente, per lesione dell'endotelio valvolare, sia indirettamente, attraverso la già menzionata condizione di trombofilia). I pazienti con sindrnme da anticorpi antifosfolipidi possono infine sviluppare altre manifestazioni cliniche, come *livedo reticularis*, anemia emolitica e necrosi asettica. Nella tab. VI sono riportati i criteri per l'accertamento diagnostico della sindrome da anticorpi antifosfolipidi, sia essa primaria o associata al LES.

V. anche: SINDROME DA ANTICORPI ANTIFOSFOLIPIDI (XIV, 347); SINDROME DA ANTICORPI ANTIFOSFOLIPIDI*.





Digitized by Google

**Bibliografia**

Alarcón-Segovia D., Deleze M., Oria C. *et al.*, *Medicine*, 1989, **68**, 353.
Asherson R. A., Khamashta M. A., Ordi-Ross J. *et al.*, *Medicine*, 1989, **68**, 366.
Baguley E., MacLachlan N., Hughes G. R. V., *Clin. Exp. Rheumatol.*, 1988, **6**, 183.
Batchelor J. R., Fielder A. H. L., Walport M. J. *et al.*, *Clin. Exp. Immunol.*, 1987, **70**, 364.
Bell D. A., Rigby R., Stille C. R. *et al.*, *J. Rheumatol.*, 1984, **11**, 475.
Blank M., Mendelovic S., Mozes E., Shoenfeld Y., *Induction of SLE-like disease in naive mice with a monoclonal anti-DNA antibody derived from a patient with polymyositis carryng the 16/6 idiotype*, in Bach J. F., *Immunointervention in Autoimmune Diseases*, 1989, Academic Press, New York, p. 187.
Bluestein H. G., *N. Engl. J. Med.*, 1987, **317**, 309.
Bluestein H. G., Pischel K. D., Woods W. L. Jr., *Springer Semin. Immunopathol.*, 1986, **9**, 237.
Bluestein H. G., Williams G. W., Steinberg A. D., *Am. J. Med.*, 1981, **70**, 240.
Bonfa E., Golombek S. J., Kaufman L. D. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1987, **317**, 265.
Catoggio L. J., Skinner R. P., Smith G. *et al.*, *J. Rheumatol.*, 1984, **11**, 175.
Cattaneo R., Carella G., *Atti XIX Congr. Naz. Soc. It. Allergol. Immunol. Clin.*, Bari, 12-16 dicembre 1989, p. 308.
Cervera R., Font J., López-Soto A. *et al.*, *Ann. Rheum. Dis.*, 1990, **49**, 109.
Chan J. K. H., Harris E. N., Hughes G. R. V., *J. Obstet. Gynaecol.*, 1986, **7**, 16.
Fielder A. H. L., Walport M. J., Batchelor J. M. *et al.*, *Br. Med. J.*, 1983, **286**, 425.
Golombek S. J., Graus F., Elkon K. B., *Arthritis Rheum.*, 1986, **29**, 1090.
Hamilton R. G., Harley J. B., Bias W. B. *et al.*, *Arthritis Rheum.*, 1988, **31**, 496.
Harris E. M., Chan J. K. H., Asherson R. A. *et al.*, *Arch. Intern. Med.*, 1986, **146**, 2153.
Harris E. N., Gharavi A. E., Asherson R. A. *et al.*, *Clin. Exp. Rheumatol.*, 1984, **2**, 47.
Hochberg M. C., Boyd R. E., Ahearn J. M. *et al.*, *Medicine*, 1985, **64**, 285.
Homsy J., Morrow W. J. W., Levy J. A., *Clin. Exp. Immunol.*, 1986, **65**, 473.
How A., Dent P. B., Liao S. K., Denburg J. A., *Arthritis Rheum.*, 1985, **28**, 789.
Howard P. F., Hochberg M. C., Bias W. B. *et al.*, *Am. J. Med.*, 1986, **81**, 187.
Khamashta M. A., Cervera R., Asherson R. A. *et al.*, *Lancet*, 1990, **2**, 1541.
Krieg A. M., *Arthritis Rheum.*, 1989, **22**, 322.
Lecovitz H., Fletcher M. A., Phillips P. *et al.*, *Hum. Genet.*, 1988, **80**, 253.
Lockshin M. D., Druzin M. L., *N. Engl. J. Med.*, 1985, **313**, 1351.
Lockshin M. D., Druzin M. L., Goei S. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1985, **313**, 152.
Lockshin M. D., Qamar T., Druzin M. L. *et al.*, *J. Rheumatol.*, 1987, **14**, 259.
Maddison P. J., *Clin. Exp. Rheumatol.*, 1988, **6**, 169.
Masala C., *Lupus eritematoso sistemico*, in Introzzi P., *Trattato italiano di medicina interna. Malattie del sistema immunocompetente*, II vol., 1987, USES, Firenze, p. 691.
Masala C., *Autoimmunità e malattie autoimmuni*, in Damacco F., *Immunologia in medicina*, 1989, Edi Ermes, Milano, p. 621.
McCune A. B., Weston W. L., Lee L. A., *Ann. Intern. Med.*, 1987, **106**, 518.
McNeil H. P., Simpson R., Chesterman C., Krilis S. A., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990, **87**, 4120.
Miyakawa Y., Yamada A., Kosaka K. *et al.*, *Lancet*, 1981, **2**, 493.
Petri M., Rheinschmidt M., Whiting-O'Keefe Q. *et al.*, *Ann. Intern. Med.*, 1987, **106**, 524.
Pischel K. D., Bluestein H. G., Woods V. L. Jr., *Clin. Res.*, 1985, **33**, 592A.
Porter D. D., *Progr. Med. Virol.*, 1986, **124**, 81.
Provost T. T., Watson R., Gammon W. R. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1987, **316**, 1135.
Reichlin M., Harley J. B., *Am. J. Med.*, 1988, **85** (6A), 35.
Schattner A., Rager-Zisman B. B., *Rev. Infect. Dis.*, 1990, **12**, 204.
Smolen J. S., Chused T. M., Leiserson W. M. *et al.*, *Am. J. Med.*, 1982, **72**, 783.
Speirs C., Fielder A. H. L., Chapel H. *et al.*, *Lancet*, 1989, **2**, 922.
Stevens M. B., *Springer Semin. Immunopathol.*, 1986, **9**, 251.
Sturfelt G., Nived O., Norberg R. *et al.*, *Arthritis Rheum.*, 1987, **30**, 382.
Taylor P. V., Scott J. S., Gerlis L. M. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1986, **315**, 667.
Theophilopoulos A. N., Dixon F. J., *Adv. Immunol.*, 1985, **12**, 1940.
Tsokos G. C., *J. Immunol. Immunopharmacol.*, 1989, **9**, 220.
Ware Branch D., Scott J. R., Kochenour M. D., Herschgold M. D., *N. Engl. J. Med.*, 1985, **313**, 1322.
Woodrow J. C., *J. Rheumatol.*, 1988, **15**, 197.

CESARE MASALA E FABRIZIO TOCCACELI

## LYELL, SINDROME DI [v. vol. VIII, col. 2478]

**Errata-corrige**

A col. 2478 del vol. VIII, 6ª riga dal basso: *corrige* gruppo fagico 11 in gruppo fagico II.

## LYME, MALATTIA DI

SOMMARIO



### Generalità e cenni storici

La malattia di Lyme è una malattia infettiva multisistemica che colpisce primariamente la cute, il S.N.C., il cuore e le articolazioni, il cui agente etiologico è una spirocheta del genere *Borrelia*.

Descritta solo recentemente come entità nosologica separata (Steere *et al.*, 1977), la m. di L. presenta un'ampia distribuzione geografica comprendente l'America del nord, l'Europa (compresa la Russia europea), l'Australia, la Cina e il Giappone, con particolari concentrazioni legate agli ambienti rurali.

Sotto la denominazione di m. di L. sono state ora unificate diverse sindromi precedentemente considerate distinte tra di loro, l'etiopatogenesi delle quali è rimasta a lungo sconosciuta: fra queste ricordiamo, l'*eritema cronico migrante* (v.*), noto in dermatologia fin dal 1909 (Afzelius, 1921; Lipshütz, 1923), caratterizzato da una lesione cutanea espansiva fino a non molto tempo fa attribuita al morso di una zecca, l'*acrodermatite cronica atrofizzante* (Herxheimer, 1902), la *meningite cronica linfocitaria* e la *sindrome di Bannwarth* (Bannwarth, 1944). Nel 1975 veniva descritta come *artrite di Lyme* (Steere *et al.*, 1976) una forma di artrite giovanile ad andamento endemico occorsa in tre comunità rurali contigue (Lyme, Old Lyme, East Haddam) del Connecticut (U.S.A.); in molti di questi casi era presente l'associazione con l'eritema cronico migrante e dall'anamnesi risultava un morso di zecca, 4-20 giorni prima dell'esordio della malattia. Quest'ultima circostanza ha indotto un vasto studio clinico-epidemiologico sul territorio di Connecticut, Massachusetts, New York, Long Island e New Jersey, studio che ha dimostrato la sovrapponibilità tra le aree di endemia dell'*artrite di Lyme* e la distribuzione sul territorio di *Ixodes dammini* (artropode dell'ordine *Acarina*, famiglia *Ixodidae*), consentendo di formulare l'ipotesi che queste zecche fossero i vettori responsabili della trasmissione della malattia (Steere *et al.*, 1978). Peraltro, fin dal 1948 Lennhoff aveva descritto microrganismi simili a spirochete in campioni cutanei ottenuti dalle lesioni dermatologiche di pazienti con l'*eritema cronico migrante*; questa osservazione fu utilizzata da molti studiosi europei come razionale per l'uso della penicillina nel trattamento di queste lesioni cutanee.

Nel 1982, infine, l'ipotesi unitaria di un agente trasmissibile che utilizzasse le zecche come vettori, trovava piena conferma dagli studi di Burgdorfer, che dimostravano la presenza sia di spirochete treponemiformi in adulti di *I. dammini*, sia di anticorpi specifici verso questo agente in 9 soggetti affetti da m. di L. Successivamente è stata individuata questa specie di spirochete come unico

Digitized by Google

agente etiologico della m. di L. e, in onore al suo scopritore, è stata denominata *Borrelia burgdorferi*.

Con la conferma di queste osservazioni, sotto l'eponimo di *m. di L.* o di *borreliosi di Lyme*, sono stati unificati tutti i quadri clinici sopradescritti, che rappresentano le manifestazioni dei diversi stadi clinici della malattia.

**Etiologia**

Le diverse specie del genere *Borrelia* vengono classificate nel *philum Eubacterium*, ordine *Spirochetales*, famiglia *Spirochaetaceae*.

La morfologia delle borrelie ripete quella di ogni altra spirocheta (fig. 1): essa consta di un cilindro protoplasmatico circondato da una membrana cellulare, da flagelli e da una membrana esterna. Il numero dei flagelli risulta essere importante dal punto di vista tassonomico nei confronti degli altri membri del genere *Borrelia*; infatti, i flagelli periplasmatici di *B. burgdorferi* risultano essere 7 (per ogni estremità) negli isolati umani europei, e/o 11 nei ceppi americani. La membrana esterna risulta solo lassamente associata alle altre strutture cellulari; questo tipo di struttura permette all'intera membrana esterna di spostarsi liberamente alle estremità del cilindro, giocando in tal modo un ruolo determinante per l'aderenza cellulare. Inoltre, la stessa membrana esterna viene codificata da geni localizzati in plasmidi, permettendo al microrganismo rapidi cambiamenti delle proteine di superficie con conseguenti variazioni antigeniche.

Le borrelie appaiono più lunghe e più debolmente avvitate delle altre spirochete; sono batteri microaerofili esigenti che crescono al meglio a 33 °C in un terreno selettivo noto come Barbour-Stoenner-Kelly Medium che può essere utilizzato sia in fase liquida che in fase solida con l'aggiunta di 1,3% di agaroso.

L'isolamento di *B. burgdorferi* dalle zecche è relativamente facile, mentre è sufficientemente difficoltoso dal sangue, dal liquido cerebrospinale e dalle lesioni cutanee dei pazienti, soprattutto se non eseguito nei primi stadi dell'infezione. Peraltro, è possibile evidenziare *B. burgdorferi* in sezioni istologiche di *eritema cronico migrante* con l'impregnazione argentica e con anticorpi specifici marcati. Le borrelie crescono più lentamente rispetto ai comuni batteri; ogni spirocheta inizia la propria replicazione con una fase di allungamento di circa 24 h, che viene seguita da una scissione binaria. Generalmente *B. burgdorferi* perde la propria patogenicità dopo 10-15 passaggi colturali e, con ulteriori passaggi, anche la propria capacità infettante.

Fra le specie di *Borrelia*, *B. burgdorferi* è la più lunga (20-30 μm) e la più sottile (0,2-0,3 μm). L'ultrastruttura è quasi sovrapponibile a quella dei treponemi: se ne discosta per l'assenza di tubuli intracitoplasmatici e di una guaina periflagellare. Almeno 30 differenti proteine sono presenti nella struttura di *B. burgdorferi*, ma attualmente solo di poche ne sono conosciute le funzioni. Il DNA di questa spirocheta presenta il 41-69% di omologia con quello di altre specie di *Borrelia* e un rapporto guanina-citosina (G-C) tra il 28 e il 30,5%. Da dati recenti è emerso che l'organizzazione del genoma in *B. burgdorferi* è unica, in quanto esso è articolato in un cromosoma lineare, anziché circolare, di 1000 kbasi e plasmidi circolari e lineari di varie masse, a partire da 50 kbasi. Si tratta di un esempio unico nell'ambito dei procarioti.

La presenza di DNA plasmidico è stata dimostrata in tutti i ceppi di *B. burgdorferi* isolati. Una delle funzioni principali di questi plasmidi, come già sottolineato, è la sintesi delle proteine della superficie esterna, ma sembrano anche codificare per altre proteine importanti per la patogenicità del microrganismo; infatti, la riduzione di patogenicità dopo ripetuti passaggi colturali sembra direttamente correlata con la perdita di particolari plasmidi.

Fig. 1. *Borrelia burgdorferi*, ceppo BITS, isolato da zecca del Carso triestino. (*Istituto di Microbiologia, Università di Trieste*).

Sono state evidenziate alcune differenze nella morfologia, nella presenza di alcuni determinanti antigenici e di alcuni plasmidi fra ceppi di *B. burgdorferi* americani ed europei; ciò ha permesso l'individuazione di differenti immunotipi o sottotipi; tuttavia attualmente non viene accettato alcun sistema di sottoclassificazione.

**Patogenesi ed epidemiologia**

La distribuzione della m. di L. in ambienti rurali è indicativa delle capacità di *B. burgdorferi* di mantenersi nell'ambiente attraverso passaggi ripetuti in animali; l'uomo è interessato solo occasionalmente ed è così comprensibile come la m. di L. non abbia mai assunto un vero andamento epidemico, presentandosi in forma endemica solo nelle aree popolate da zecche facenti parte dell'*Ixodes ricinus complex*. A questo appartengono la già citata *I. dammini*, presente in alcuni stati nord-orientali e centrali, *I. pacificus* presente sulla costa occidentale e *I. scapularis* presente nel sud degli U.S.A., *I. ricinus* presente in Europa, *I. persulcatus* presente in Asia e *I. ovatus* in Giappone; le zecche del genere *Ixodes* sono anche presenti in Australia, in Africa e in Sud-America.

*B. burgdorferi* è stata isolata anche in altre specie di zecche, in zanzare e in mosche, ma solo le zecche dell'*Ixodes ricinus complex* sembrano rivestire un ruolo importante nella trasmissione delle spirochete all'uomo; questa evidenza appare legata alle caratteristiche del loro ciclo vitale.

Le zecche adulte, che parassitano un ospite definitivo (daini o cervi negli U.S.A.) sul quale non avviene alcuna fase del ciclo di replicazione di queste, nei mesi autunnali si nutrono di un pasto ematico e si accoppiano. Le femmine sopravvivono all'inverno nell'ambiente ed a primavera depongono le uova. Durante l'estate le larve di zecca fuoriescono dalle uova, parassitano un ospite intermedio (generalmente un roditore del genere *Peromyscus leucopus* negli U.S.A. e *Apodemus flavicollis* in Europa) e si nutrono di un primo pasto ematico. Una volta introdotte con un pasto da un ospite infetto, le spirochete rimangono confinate nell'intestino della zecca fino alla primavera o alla prima estate dell'anno seguente quando questa, sviluppatasi nella forma ninfale, parassita un altro ospite intermedio consumando un secondo pasto ematico. La trasmissione di *B. burgdorferi* avviene sia durante il pasto, per inoculo di saliva infetta, come dimostrato dalla presenza delle borrelie nelle ghiandole salivari, che alla fine dello stesso, mediante rigurgito nella ferita dell'ospite.

La ninfa rimane legata allo stesso ospite fino alla tarda estate quando, dopo un ulteriore pasto, muta nello stadio adulto migrando sull'ospite definitivo. Lo stadio di ninfa è cruciale per il





Digitized by Google

mantenimento e l'amplificazione dell'epidemia, perché le borrelie non sono patogene per i roditori che, quindi, rimangono spirochetonemici dalla primavera a tutta l'estate, favorendo così la trasmissione orizzontale delle spirochete, all'inizio dell'estate dalle ninfe infette al roditore e, nell'estate avanzata, dal roditore infetto alle larve che mantengono ed amplificano l'infezione fino alla primavera successiva nello stadio di ninfe.

A conferma di questa ampia diffusione di *B. burgdorferi* nell'ambiente selvatico, è stato calcolato che nelle aree di endemia l'incidenza delle zecche infette è del 10-35%, con un tasso di nuove infezioni del 50%.

La trasmissione delle spirochete all'uomo tramite un morso di zecca è, pertanto, un evento accidentale che occorre a causa di una ninfa nel corso della primavera o dell'estate, ovvero a causa di una zecca adulta nel corso dell'autunno. Con il morso della zecca infetta avviene la penetrazione, attraverso la lesione di continuo creatasi sulla cute dell'ospite, delle borrelie presenti nella saliva e nelle feci dell'artropode.

*B. burgdorferi* è coltivabile con difficoltà dal sangue, dalla lesione cutanea e dal liquido cerebrospinale dell'individuo infetto, mentre non è possibile il suo riscontro diretto all'esame microscopico di frammenti cutanei ottenuti dalla sede di lesione.

L'istologia delle tipiche lesioni cutanee è caratterizzata da abbondantissimi infiltrati perivascolari di tipo linfoistiocitario con rari mastociti e plasmacellule. Tale evidenza ha fatto ipotizzare che il meccanismo patogenetico della m. di L. sia in gran parte legato alla capacità che ha *B. burgdorferi* di indurre una risposta immune di tipo iperergico; infatti *B. burgdorferi* si è dimostrato un potente attivatore di certe popolazioni di linfociti T. I danni tessutali, rilevabili a livello delle articolazioni e del S.N.C. in corso di m. di L., sarebbero stati inoltre attribuiti a meccanismi di tipo autoimmunitario. L'andamento infiammatorio cronico della malattia è imputabile all'elevato tempo di sopravvivenza delle borrelie nell'ospite infettato (alcuni anni), anche se non va esclusa l'ipotesi che la risposta infiammatoria indotta dall'infezione si automantenga grazie a fenomeni di tipo autoimmunitario.

**Sintomatologia**

Come le altre malattie da spirochete la m. di L. è caratterizzata da differenti stadi clinici, con diverse manifestazioni tipiche di ogni stadio e un decorso caratterizzato da numerose esacerbazioni e remissioni.

Nei pazienti che non abbiano praticato terapia antibiotica la sequenza delle manifestazioni cliniche, analogamente alla sifilide, viene suddivisa in manifestazioni precoci e manifestazioni tardive (tab. I). Le manifestazioni precoci constano di un I stadio, o dell'infezione acuta, seguito dopo alcuni giorni o settimane da un II stadio, o dell'infezione disseminata, e, dopo alcune settimane o mesi, da sintomi intermittenti. Le manifestazioni tardive del III stadio, caratterizzato dalla persistenza dell'infezione, si presentano generalmente almeno dopo un anno dall'inizio della malat-

**TAB. I. MANIFESTAZIONI DELLA MALATTIA DI LYME PER STADI**

(da Steere, 1989)

| Organi e sistemi* | Infezione precoce | | Infezione tardiva |
|---|---|---|---|
| | **Localizzata<br>I stadio** | **Disseminata<br>II stadio** | **Persistente<br>III stadio** |
| Cutaneo | Eritema migrante | Eritema anulare secondario, *rash* malare, eritema diffuso o orticaria, lesioni evanescenti | Acrodermatite cronica atrofizzante, lesioni simil-sclerodermiche |
| Muscoloscheletrico | | Dolore migrante alle articolazioni, tendini, capsule, muscoli, ossa; brevi attacchi di artrite, miosite, osteomielite**, panniculite** | Attacchi di artrite prolungati, artrite cronica, periostite o sublussazione articolare sotto le lesioni dell'acrodermatite |
| Nervoso centrale | | Meningite, neurite nervi cranici, radicoloneurite, encefalite subacuta, mielite**, corea**, atassia cerebellare** | Encefalomielite cronica, paraparesi spastica, atassia, poliradicolopatia, demenza** |
| Linfatico | Linfadenopatia regionale | Linfadenopatia regionale o generalizzata, splenomegalia | |
| Cardiaco | | Blocco atrioventricolare, miocardiopericardite, pancardite | |
| Occhio | | Congiuntivite, irite**, coroidite**, emorragia retinica**, distacco di retina**, panoftalmite** | Cheratite |
| Fegato | | Epatite moderata o ricorrente | |
| Respiratorio | | Faringite non essudativa, tosse non produttiva, ARDS** (*Adult Respiratory Distress Syndrome*) | |
| Renale | | Ematuria microscopica, proteinuria | |
| Genitourinario | | Orchite** | |
| Sintomi generali | Minori | Malessere e profonda astenia | Astenia |

* Gli organi e sistemi elencati sono i più frequentemente interessati dalla malattia

** L'inclusione di queste manifestazioni è basata sulla segnalazione di uno o pochi casi.



Digitized by Google

tia. Peraltro, ogni singolo paziente può presentare tutti gli stadi della malattia, come pure uno solo di questi senza che precedentemente si siano mostrati i segni e i sintomi precoci, divenendo così clinicamente sintomatico solo con le manifestazioni del II o del III stadio.

Nel *I stadio*, insorto dopo un periodo variabile da 3 giorni a 1 mese dal morso di zecca, compare nel punto di penetrazione delle borrelie la tipica lesione cutanea dell'*eritema cronico migrante*, caratterizzata da un largo anello eritematoso con una zona centrale chiara. Alla manifestazione dermatologica, presente nella maggioranza dei soggetti affetti, si possono spesso associare sintomi quali malessere, astenia, sonnolenza, febbre con brividi, torcicollo, artralgie, mialgie e linfadenopatia distrettuale; numerosi altri segni e sintomi possono intervenire con minor frequenza, come indicato nelle tabb. II e III. Nei pazienti che in questa fase presentano un sia pur moderato interessamento neurologico l'esame del liquor risulta normale.

A parte la costante presenza di astenia e sonnolenza, che talvolta si protrae per mesi, tutti i segni e sintomi di questo stadio sono tipicamente intermittenti e variabili, con durata media di 2 settimane.

I reperti di laboratorio mostrano un aumento della velocità di eritrosedimentazione (VES 1 h > 20 mm), una leucocitosi neutrofila, un elevato titolo delle IgM e spesso la presenza di immunocomplessi circolanti e crioglobuline. Talvolta si possono evidenziare i segni biochimici di alterazione della funzione epatica. Nel I stadio di malattia rispetto agli stadi successivi le borrelie sono più facilmente isolabili dalle lesioni cutanee, mentre gli anticorpi specifici verso *B. burgdorferi* nella maggior parte dei casi non sono ancora individuabili.

Nel *II stadio* avviene la diffusione delle spirochete, per via ematogena e linfatica, a diversi organi e apparati con conseguente comparsa di manifestazioni cutanee, neurologiche, cardiache ed artromialgiche.

Le lesioni cutanee si presentano anch'esse di morfologia anulare, ma più piccole e meno migranti rispetto alle lesioni primarie; la loro comparsa è verosimilmente attribuibile a localizzazioni secondarie multiple piuttosto che a nuovi contatti con l'agente etiologico.

La sintomatologia neurologica è caratterizzata dalla triade meningite, nevrite dei nervi cranici e radicolonevrite; i segni della compromissione del S.N.C., quando presenti, sono sfumati e caratterizzati dalla presenza di sonnolenza, riduzione della memoria e cambiamenti nel tono dell'umore. In molti casi, soprattutto in quelli che occorrono nel nostro continente, il dolore radicolare è il primo segno neurologico e in genere è seguito dalla meningite e dall'encefalite. Nei pazienti con meningite l'esame del liquor mette in evidenza la presenza di linfocitosi, a cui spesso si associano elevati livelli di proteine e normali livelli di glicoso.

La più comune anormalità cardiaca rilevabile è un blocco atrioventricolare di vario grado che, in taluni casi, può arrivare fino al blocco completo, spesso accompagnato da crisi sincopali; inoltre, molti pazienti presentano un quadro elettrocardiografico di miocardiopericardite.

La sintomatologia artromialgica del II stadio è caratterizzata da numerosi episodi di dolore e impaccio articolare che generalmente migrano da un'articolazione ad un'altra. Questi episodi durano solo pochi giorni per ogni localizzazione e coinvolgono anche i tendini, i muscoli e le ossa.

Profonda astenia e malessere accompagnano costantemente i sintomi specifici delle localizzazioni d'organo. Senza trattamento i sintomi cardiaci cronicizzano e quelli neurologici perdurano da 3 a 18 mesi.

**TAB. II. SEGNI PRECOCI DELLA MALATTIA DI LYME E LORO FREQUENZA**
(da Steere *et al.*, 1983)

| Segni | Frequenza % |
|---|---|
| Eritema cronico migrante | 95 |
| Linfadenopatia regionale | 41 |
| Linfadenopatia generalizzata | 20 |
| Rigidità nucale | 17 |
| *Rash* malare | 13 |
| Angina | 12 |
| Congiuntivite | 11 |
| Dolorabilità ipocondrio destro | 8 |
| Artrite | 6 |
| Splenomegalia | 6 |
| Epatomegalia | 5 |
| Dolorabilità muscolare | 4 |
| Edema periorbitale | 3 |
| Dolorabilità addominale diffusa | 2 |

**TAB. III. SINTOMI PRECOCI DELLA MALATTIA DI LYME E LORO FREQUENZA**
(da Steere *et al.*, 1983)

| Sintomi | Frequenza % |
|---|---|
| Malessere, astenia e sonnolenza | 80 |
| Cefalea | 64 |
| Febbre e brividi | 59 |
| Torcicollo | 48 |
| Artralgie | 48 |
| Mialgie | 43 |
| Lombalgie | 26 |
| Anoressia | 23 |
| Faringodinia | 17 |
| Nausea | 17 |
| Vomito | 10 |
| Dolore addominale | 8 |
| Fotofobia | 6 |
| Rigidità delle articolazioni delle mani | 5 |
| Vertigini | 5 |
| Tosse | 5 |
| Dolore toracico | 4 |
| Otalgie | 4 |
| Diarrea | 2 |

L'*artrite di Lyme* è la tipica manifestazione del *III stadio* e può esordire anche parecchi mesi dopo le manifestazioni primarie. Essa è caratterizzata da episodi tipicamente brevi, ricorrenti, di gonfiore e dolore mono- od oligoarticolare, coinvolgenti primariamente e in maniera asimmetrica le grandi articolazioni, in particolare le ginocchia, intervallati da lunghi periodi di completa remissione. Successivamente, dopo il 2°-3° anno di malattia, gli attacchi di artrite tendono





Digitized by Google

progressivamente ad allungarsi, durando mesi piuttosto che settimane, fino al sopraggiungere dell'artrite cronica (della durata superiore all'anno). Nei casi più gravi l'*artrite cronica di Lyme* può condurre all'erosione delle cartilagini e dei capi articolari, fino all'anchilosi.

Sempre nel corso del III stadio sono osservabili anche altri sintomi a livello neurologico e cutaneo. La sindrome neurologica tardiva è caratterizzata da una encefalomielite progressiva con paraparesi, vescica neurologica, atassia, deficit del VII o dell'VIII nervo cranico, deterioramento psichico fino alla demenza.

L'*acrodermatite cronica atrofizzante* è la manifestazione dermatologica tardiva della m. di L.; inizia insidiosamente con una depigmentazione rosso-bluastra di una estremità e subedema cutaneo; la fase di infiammazione può persistere a lungo e, gradualmente, conduce all'atrofia cutanea. La lesione si manifesta nello stesso punto in cui era presente l'eritema migrante all'esordio della malattia.

Sono stati riportati in letteratura diversi casi di infezione congenita da *B. burgdorferi* in figli di donne che avevano presentato manifestazioni cliniche della m. di L., quali eritema cronico migrante, durante la gravidanza. Le conseguenze dell'infezione del prodotto del concepimento vanno dalla morte intrauterina del feto alla comparsa di varie patologie nel neonato, quali la cecità, la sindattilia e l'esantema.

**Diagnosi**

La diagnosi dovrebbe basarsi sull'identificazione di certezza delle spirochete, ma, poiché l'esame colturale e l'esame microscopico diretto risultano particolarmente difficoltosi, la sierologia è praticamente l'unico esame di laboratorio correntemente usato a fini diagnostici. I due metodi maggiormente utilizzati sono l'immunofluorescenza indiretta e, più ancora, il metodo immunoenzimatico (ELISA) che garantisce una maggiore sensibilità e specificità; peraltro, essendo ancora numerosi i falsi negativi e, soprattutto, i falsi positivi, è necessario che l'interpretazione dei risultati di laboratorio sia correlata ad un ben ponderato sospetto clinico. I falsi negativi sono relativamente frequenti nelle prime settimane dall'infezione, mentre falsi positivi possono occorrere in corso di diverse patologie, quali la sifilide, le rickettsiosi, le malattie autoimmuni e le neuropatie.

La metodica dell'*immunoblotting*, che presenta una maggior specificità dell'ELISA, viene utilizzata con successo come test di conferma per lo studio dei campioni risultati falsamente positivi.

La ricerca degli anticorpi, con l'uso delle metodiche sopracitate, può essere condotta anche sul liquor e sul liquido sinoviale, anche se il significato diagnostico dei risultati, in questi casi, è scarso.

**Terapia**

La m. di L. deve essere trattata con un'adeguata terapia antibiotica in ogni suo stadio evolutivo.

Per le manifestazioni precoci (I stadio) 250 mg di tetraciclina 4 volte al dì *per os*, oppure 100 mg di doxiciclina 2 volte al dì *per os*, o 500 mg di amoxicillina 4 volte al dì *per os* per 30 giorni, assicurano una rapida remissione della sintomatologia e spesso impediscono l'evoluzione verso gli stadi successivi di malattia.

Per le manifestazioni cardiache e neurologiche del II stadio si raccomanda la somministrazione parenterale di ceftriaxone 2 g in monodose giornaliera per 14 giorni, o di penicillina G 20 milioni di U. al dì per 14 giorni, oppure, per i pazienti allergici alle penicilline, di doxiciclina 100 mg 2 volte al dì *per os* per 30 giorni, o di cloramfenicolo 250 mg 4 volte al dì per e. v.

Un notevole successo terapeutico è stato recentemente ottenuto con l'impiego dei macrolidi quali la josamicina e l'eritromicina. Il vantaggio nell'uso di questi antibiotici rispetto alle tetracicline risiede nella loro possibilità d'uso in età pediatrica e durante la gravidanza.

L'*artrite di Lyme* (III stadio) si risolve in alcuni casi con la somministrazione parenterale di penicillina ritardo, 2,4 milioni di U. 1 volta a settimana per 3 volte, oppure con penicillina G 20 milioni di U. al dì per e. v. per 14 giorni, ma anche con la somministrazione prolungata oltre un mese per via orale di doxicillina 100 mg 2 volte al dì e di amoxicillina più probenecid 500 mg 4 volte al giorno; dosaggi superiori e periodi di somministrazione più lunghi vanno valutati per ogni singolo caso.

La somministrazione intrarticolare di steroidi contemporaneamente alla terapia antibiotica è da considerarsi quantomeno imprudente.

Recentemente si sono fatti progressi nella preparazione di un vaccino ottenuto con un clone-gene per una proteina (chiamata Osp A) della superficie della spirocheta: risultati positivi si sono avuti nel topino (Fikrig *et al.*, 1990).

**Bibliografia**

Afzelius A., *Acta. Derm. Venereol.*, 1921, **2**, 120.
Asbrink E., Hovmark A., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1988, **539**, 4.
Bannwarth A., *Arch. Psychiatr. Nervenkr.*, 1944, **117**, 161.
Benach J. L. *et al.*, *J. Infect. Dis.*, 1987, **155**, 1300.
Burgdorfer W. *et al.*, *Science*, 1982, **216**, 1317.
Costello C. M. *et al.*, *J. Infect. Dis.*, 1989, **159**, 136.
Dattwyler R. J. *et al.*, *Lancet*, 1990, **336**, 1406.
Fikrig E. *et al.*, *Science*, 1990, **256**, 553.
Herxheimer K., *Arch. Dermatol. Syph.*, 1902, **61**, 57.
Lennhoff C., *Acta. Derm. Venereol.*, 1948, **28**, 295.
Lipshütz B., *Arch. Dermatol. Syph.*, 1923, **143**, 365.
Mc Alister H. F. *et al.*, *Ann. Intern. Med.*, 1989, **110**, 339.
Steere A. C. *et al.*, *Arthritis Rheum.*, 1976, **19**, 824.
Steere A. C. *et al.*, *Ann. Intern. Med.*, 1977, **86**, 685.
Steere A. C. *et al.*, *Am. J. Epidemiol.*, 1978, **108**, 312.
Steere A. C., *N. Engl. J. Med.*, 1989, **321**, 586.

MARINA CINCO E SERGIO BABUDIERI



Digitized by Google

# M

**MAGNESIO** [v. vol. IX, col. 35]

SOMMARIO



## Introduzione

Il magnesio [Mg] è, dopo il potassio, il principale catione intracellulare ed è il quarto fra i più comuni cationi dell'organismo umano dopo Na, K e Ca. Nell'individuo adulto sono presenti circa 25-28 g (2000-2300 mEq) distribuiti come indicato nella tab. I. Il metabolismo del Mg, risultato di vari processi, è costituito da diverse tappe quantificate in fig. 1 e analizzate successivamente.

## Metabolismo

### *Apporti*

1. *Apporto alimentare.* – Una normale dieta mista fornisce 250-400 mg/*die* di Mg (20-30 mEq circa). Un bilancio positivo di Mg si mantiene con l'apporto di 4,5-5,5 mg/kg/*die*, con maggiori quantità nella prima infanzia: secondo il National Research Council il fabbisogno dietetico di Mg è circa 5 mg/kg/*die* nell'adulto, 10 mg/kg/*die* nell'adolescenza e di 12 mg/kg/*die* nell'infanzia. Il Mg è pre-

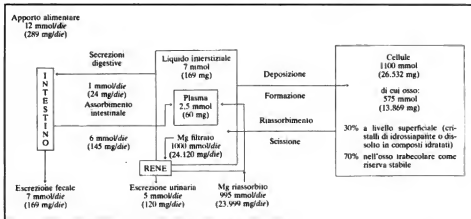



Fig. 1. Schema del metabolismo del Mg (valori medi per un individuo di 70 kg).



Digitized by Google

**TAB. I. DISTRIBUZIONE DEL MAGNESIO NELL'UOMO ADULTO**

| | Concentrazione | % del Mg totale |
|---|---|---|
| Mg totale corporeo | 25 mEq/kg | 100 |
| Liquido extracellulare | 1,6-2,1 mEq/l | 1,3 |
| Liquido intracellulare | | |
| Globuli rossi | 4,6-6,2 mEq/l | 0,7 |
| Tessuto muscolare | 7,6-8,1 mEq/l | 20 |
| Tessuti molli | 16 mEq/l | 10 |
| Ossa | | 67-70 |
| corticale | 214 mEq/kg | |
| trabecolare | 252 mEq/kg | |
| Liquor | 2,5 mEq/l | |
| Sudore | 0,6 mEq/l | |

sente soprattutto in alcuni cibi (tab. II) specie vegetali, che possono non essere abituali in molte diete.

2. *Apporto farmacologico.* – Per via venosa, è usato il solfato di Mg (p. m. 246,5; 1 g contiene 8,12 mEq di Mg) nella terapia della ipomagnesiemia; nella preeclampsia e nella eclampsia (0,16-0,32 mEq/kg/*die*) e nelle aritmie ipercinetiche ventricolari (30-45 mg/min). Per via orale vengono invece utilizzati il cloruro di Mg, l'ossido e l'idrossido di Mg nella prevenzione della calcolosi calcica urinaria (ottimizza il rapporto Mg/Ca urinario aumentando la magnesiuria, la citraturia e la solubilità del calcio e dell'ossalato, mentre riduce l'ossaluria); l'idrossido di Mg, l'ossido di Mg e il carbonato di Mg vengono utilizzati come antiacidi ad azione rapida; il trisilicato di Mg come antiacido ad azione lenta; il solfato di Mg (2-5 g) e il citrato di Mg (1,55-1,9 g) come purganti osmotici.

*Assorbimento intestinale ed escrezione fecale*

L'assorbimento intestinale avviene a livello del digiuno e dell'ileo (0,12 mmol/30 cm × h), più per diffusione che per trasporto attivo, in assenza o scarsità di assorbimento a livello del grosso intestino, risentendo, seppur in modo non omogeneo, di diversi fattori e svariate situazioni cliniche interferenti (tab. III).

L'escrezione fecale corrisponde quantitativamente a circa il 60% del Mg ingerito: il Mg fecale è costituito da quello non riassorbito (50% di Mg introdotto) e dal Mg delle secrezioni digestive (saliva 0,5-1 mg/100 ml; succo pancreatico 0,17 mg/100 ml, etc.).

*Magnesio totale extracellulare ($Mg_e$) e magnesiemia*

Approssimativamente l'1% del Mg totale è nel volume extracellulare: la regolazione del $Mg_e$ è correlata con la quantità di Mg ingerito o somministrato per via parenterale, con l'assorbimento intestinale, con la escrezione renale e con la mobilizzazione del catione dall'osso e dai tessuti molli. La magnesiemia oscilla tra 1,6 e 2,1 mEq/l (1,7-2,3 mg%): il 55% in forma ionizzata, il 30% legato alle proteine, la restante quota (10-15%) è complessata con fosfati (3%), citrati (4%), altri sali (6%). Le variazioni

**TAB. II. CONTENUTO DI MAGNESIO IN ALCUNI ALIMENTI**
(da Seelig M. S., *Magnesium Bulletin*, 1981, **3**, Suppl. I/A, 26-47, modificata)

| Cibi ad alto contenuto in magnesio | mg/100 g | Cibi a basso contenuto in magnesio | mg/100 g |
|---|---|---|---|
| Crusca | 420 | Fichi secchi | 82 |
| Cioccolato amaro | 292 | Pane integrale | 60 |
| Soia | 285 | Pasta | 57 |
| Mandorle | 255 | Pesche, prugne secche | 55 |
| Noci brasiliane | 225 | Spinaci | 50 |
| Cacao | 192 | Castagne | 33 |
| Fagiolini | 183 | Banane | 30 |
| Arachidi | 165 | Vitello e manzo | 26 |
| Fagioli secchi | 160 | Maiale e agnello | 24 |
| Farina integrale | 150 | Lampone, fichi, more | 22 |
| Noci | 130 | Melone e prosciutto | 17 |
| Mais | 120 | Ciliege, fragole | 14 |
| Riso integrale | 105 | Ananas, arance, mele, pere, pompelmo, prugne, susine, uva | 10 |
| Cioccolato dolce | 107 | | |

**TAB. III. ASSORBIMENTO INTESTINALE DEL MAGNESIO**

| Diminuito in presenza di: | Aumentato in presenza di: |
|---|---|
| Dieta: aggiunta di KCl, fitati, grassi, aumentato apporto di Ca e P (formazione di complessi poco assorbibili) | Deficit corporeo di Mg |
| Ormoni: aldosterone, calcitonina | Elevata concentrazione intraluminale di Mg |
| Condizioni di malassorbimento: alcolismo cronico | Dieta: NaCl, proteine, galattoso e lattoso |
| Insufficienza renale cronica | Ormoni: PTH, GH, insulina e prolattina, estrogeni, VIP* e CEP** |
| | Vit. D e suoi metaboliti (in via diretta o mediata da Ca e P) |
| | Farmaci: – agenti colinergici (carbacolo) – antibiotici (cloramfenicolo) |
| | Diuretici: furosemide e ac. etacrinico (uso cronico) a compenso della aumentata escrezione urinaria |

La somministrazione di alcalinizzanti (bicarbonato di sodio) e di acidificanti (cloruro di ammonio) non induce modificazioni.
* VIP: *Vasoactive Intestinal Peptide* (peptide vasoattivo intestinale).
** CEP: *Calcium Elevating Peptide* (peptide elevante il calcio)

**TAB. IV. RIASSORBIMENTO TUBULARE RENALE DEL MAGNESIO**

| Fattori non ormonali | |
|---|---|
| **Diminuito da:** | **Aumentato da:** |
| Espansione acuta e cronica del volume extracellulare (VEC) | Alcalosi metabolica acuta* |
| Aumentato apporto di Na | Contrazione del volume extracellulare (VEC) |
| Deplezione di fosfati | Deplezione di Mg |
| Ipercalcemia | Ipocalcemia |
| Vasodilatazione renale | |
| Diuretici: | |
| dell'ansa: furosemide, ac. etacrinico | |
| osmotici: urea, mannitolo, etc. | |
| Substrati rapidamente metabolizzati (glicoso, galattoso, fruttoso, xiloso, proteine) | |
| Alcol | |
| Apporto di Mg | |
| Acidosi metabolica* | |
| **Fattori ormonali** | |
| Effetto cronico dei mineralcorticoidi | PTH |
| ADH | Deficit $T_3$ e $T_4$ |
| hGH | Calcitonina |
| Aumento ormoni tiroidei | Glucagone |
| Corticosteroidi | Insulina |

* Altre modificazioni dell'equilibrio acidobasico non inducono variazioni del riassorbimento tubulare.

della magnesiemia non riflettono adeguatamente il Mg dell'organismo: bilanci negativi di 40-70 mEq non ne provocano variazione, mentre in pazienti uremici è normale o aumentata pur in presenza di un ridotto contenuto muscolare.

*Regolazione renale*

Non sono ancora noti i meccanismi attraverso i quali la magnesiemia oscilla entro limiti ristretti, tuttavia è accertata l'importanza della regolazione renale. I glomeruli renali filtrano circa 2 g di Mg/*die* di cui il 5% (circa 100 mg) compare nelle urine, mentre il restante 95% è riassorbito, mediante trasporto attivo, lungo tutto il nefrone: tubulo contorto prossimale 25%, tubulo discendente prossimale 15%, tratto ascendente dell'ansa di Henle 50%, tubulo contorto distale 5%. Trascurabile è la secrezione tubulare nel mantenere il bilancio del Mg. È stata dimostrata la presenza di trasporto massimo (Tm) per il Mg di circa 140 μg/min/kg di peso corporeo, nel cane: il Tm è ridotto dall'espansione del volume extracellulare, dall'infusione di Ca e di PTH, dalla vasodilatazione renale. L'escrezione renale di Mg, in stretta relazione con Na e Ca, varia entro ampi limiti essendo patologici valori inferiori a 50 mg/*die* o superiori a 180 mg/*die*: molti fattori, sia ormonali che non ormonali (tab. IV), ne influenzano il controllo agendo sul riassorbimento tubulare.

Il metabolismo del Mg è regolato, inoltre, dall'intervento di numerosi ormoni che agiscono direttamente sul meccanismo di assorbimento intestinale (tab. III), di riassorbimento tubulare (tab. IV) e di immagazzinamento intracellulare (con effetti positivi: insulina, Vit. $B_6$ e D, e negativi: adrenalina) così da influenzare i livelli plasmatici e quelli intracellulari.

*Magnesio intracellulare ($Mg_i$)*

Il Mg è per la quasi totalità intracellulare: i processi di immagazzinamento sono favoriti da insulina, estrogeni e alcuni progestinici, con Vit. $B_6$ e D, oltre alla taurina, come «fissatori», mentre effetto opposto è svolto dall'adrenalina. Informazioni sul $Mg_i$ si ottengono con dosaggio del Mg eritrocitario, che non è ideale potendo variare per condizioni non interessanti primitivamente il Mg (invecchiamento del globulo rosso ed eritropatie). Anche il linfocita (43,5 ± 1,5 mmol/kg di peso) è considerato valido per lo studio intracellulare, ma il metodo è complesso e poco adatto alla clinica, così come la determinazione del Mg scambiabile in quanto lo scambio è molto lento raggiungendo il 15% nelle 24 h e il 30% in 90 h. Risultati più sicuri per deficit o eccessi di Mg si hanno con il dosaggio del Mg muscolare prelevato facilmente e senza complicazioni con agobiopsia, oppure mediante valutazione della escrezione urinaria dopo carico parenterale (infusioni di 0,25 mmol/kg di peso con ritenzione, nel normale, alla 4ª h inferiore al 20% e pari al 10% dopo 24 h) o dopo carico orale (somministrare per un mese 0,2 mmol/kg/*die*) con i primi effetti dopo 10 giorni.

**Sindromi ipermagnesiemiche**

Sono di non frequente rilievo per la capacità del rene di aumentare la escrezione del Mg in presenza di ipermagne-

**TAB. V. IPERMAGNESIEMIE: PRINCIPALI ETIOLOGIE**

**Ipermagnesiemie non iatrogene, solitamente latenti sul piano clinico**
- Insufficienza renale: acuta (fase oligurica), cronica con filtrato glomerulare inferiore a 10-15 ml/min, in emodialisi cronica e talvolta dopo trapianto renale
- Insufficienza surrenalica
- Mixedema
- Miscellanea: ipertensione arteriosa a bassa renina, metastasi ossee

**Ipermagnesiemie iatrogene**
- Da somministrazione di sali di Mg per via digestiva: purganti, antiacidi, elisteri
- Da somministrazione parenterale di sali di Mg: terapia della eclampsia
- Terapia di certe aritmie cardiache con o senza intossicazione digitalica: l'effetto ottimale si controlla all'ECG
- Ipermagnesiemia fetale dopo trattamento con sali di Mg della eclampsia materna





Digitized by Google

**TAB. VI. IPERMAGNESIEMIE: SEGNI PRINCIPALI CORRELATI ALLE CONCENTRAZIONI PLASMATICHE (mEq/l)**

| | |
|---|---|
| Turbe della conduzione cardiaca: allungamento di PR, allargamento di QRS, aumento di ampiezza di T | > 2,5 |
| Abolizione di riflessi tendinei | > 5,0 |
| Paralisi respiratorie | > 7,5 |
| Narcosi magnesiaca (sonnolenza e coma) | > 7,5 |
| Arresto cardiaco | > 12,5 |

siemia: d'altra parte non è conosciuta una ipermagnesiemia primaria. I meccanismi etiologici più frequenti sono riportati nella tab. V.

*Sintomatologia*

L'ipermagnesiemia è quasi sempre asintomatica e sintomi caratteristici possono comparire con gravità correlata al grado della ipermagnesiemia (tab. VI).

*Terapia*

È indispensabile la sospensione degli apporti esogeni, quindi somministrare per via e. v. calcio gluconato (5-10 mEq/*die*) per antagonizzare gli effetti depressivi del Mg a livello nervoso e della placca neuromuscolare (il Ca può rimuovere il Mg dalla membrana cellulare nel rapporto 1:20). Può essere utile anche l'infusione di glicoso e insulina. Nell'insufficienza renale occorre indurre poliuria con diuretici dell'ansa (furosemide e ac. etacrinico, escludendo invece amiloride, acetazolamide e spironolattoni); eventualmente iniziare una terapia sostitutiva con emodialisi o dialisi peritoneale e provocare diarrea con purganti o farmaci.

**Ipomagnesiemia e deplezione di magnesio**

L'inquadramento di tali sindromi incontra difficoltà sia per la possibile discrepanza fra la magnesiemia e il contenuto di Mg dell'organismo, sia perché ipomagnesiemia può comparire, con varie percentuali, in corso di sindromi più complesse che comportano deficit anche di altri ioni quali potassio (nel 42%), calcio (nel 22%), fosforo (nel 29%) e sodio (nel 23%). Di fatto in vaste casistiche di pazienti ospedalizzati l'ipomagnesiemia è stata descritta nell'11% dei casi, essendo diagnosticato, secondo altri AA., solo 1/5 delle sindromi ipomagnesiemiche, nella considerazione che nei coronaropatici l'ipomagnesiemia è fattore di rischio di morte improvvisa. In alcune condizioni, peraltro fisiologiche, ipomagnesiemia è di frequente riscontro: nella donna (in gravidanza, nell'allattamento, in terapia estroprogestinica), nell'anziano, nello stress fisico e psicofisico.

La etiopatogenesi delle ipomagnesiemie è riportata nella tab. VII.

*Diagnosi*

Da una accurata anamnesi si possono evidenziare perdite gastrointestinali c/o renali di Mg, anche associate a diminuito assorbimento di Ca con comparsa di quadri complessi per deficit contemporanei di entrambi i cationi. Non sempre la magnesiemia è diagnostica, essendo migliore la correlazione tra sintomi clinici e deficit di Mg, con il dosaggio negli eritrociti, nei linfociti e nel muscolo striato, e con la magnesiuria, se inferiore a 12 mg/*die*. Un ulteriore indice diagnostico si ha con la esecuzione di test dinamici, via e. v. o *per os*, valutando la ritenzione di Mg, soprattutto in presenza di sintomi clinici.

**TAB. VII. ETIOPATOGENESI DELLA IPOMAGNESIEMIA E DELLA DEFICIENZA DI MAGNESIO**

**A) Diminuita introduzione**

Digiuno
Dieta povera di Mg
Nutrizione parenterale totale priva di Mg
Etilismo cronico

**B) Ridotto assorbimento intestinale**

Sindromi da malassorbimento e resezioni estese dell'intestino tenue
Etilismo cronico (per diarrea e non apporto di Vit. D)
Uremia [per deficit di 1,25(OH)$_2$ colecalciferolo]
Difetto intestinale selettivo di assorbimento di Mg

**C) Aumentate perdite**

1) Per via gastroenterica: vomito, uso prolungato di sondino nasogastrico, diarrea cronica (gastroenteriti, colite ulcerosa, morbo di Crohn, etc.), steatorrea, abuso di purganti, fistole intestinali e biliari
2) Per via renale: *a*) difetti tubulari primitivi: acidosi tubulare renale, *idiopathic renal magnesium and potassium wasting, idiopathic renal magnesium wasting*, sindrome di Bartter
*b*) ridotto riassorbimento tubulare per: terapia diuretica (escluso spironolattoni, acetazolamide, amiloride); diuresi osmotica; somministrazione di calcio, di etanolo, di vari antibiotici aminoglicosidici, di cisplatino; iperdosaggio di Vit. D, stati ipercalcemici di qualsiasi etiologia; iperaldosteronismo (primario e secondario); diabete mellito; ipertiroidismo e iperparatiroidismo
3) Per altre vie: sudorazione profusa, allattamento prolungato

**D) Altri meccanismi**

Trattamento del digiuno e del diabete chetoacidosico
Porfiria (emodiluizione da inappropriata secrezione di ADH)
*Hungry bone syndrome* (passaggio di Mg nell'osso dopo paratiroidectomia)
Pancreatite acuta (formazione di saponi con Mg nella liponecrosi pancreatica)
Ripetute trasfusioni o exsanguinotrasfusioni con sangue citratato
Forma idiopatica, presente in neonati a carattere familiare

All'esame istologico, le fibre muscolari possono presentare degenerazione ialina e vacuolare, talvolta infiltrazione leucocitaria, necrosi segmentaria e calcificazione; l'elettromiografia rileva dei potenziali che assomigliano a quelli osservati nelle miopatie.

*Sintomatologia*

La sintomatologia principale è riportata nella tab. VIII.

*Terapia*

Raramente riveste caratteri di urgenza, mentre è necessario eliminare le cause della ipomagnesiemia e prevenirne deficit tessutali con la somministrazione di 10-15 mEq/*die* di Mg, in condizioni a rischio quali uso protratto di sondino nasogastrico o di terapia diuretica, etc. È difficile stabilire con precisione l'entità del deficit corporeo in Mg stante la prevalente dislocazione intracellulare del catione: di solito nella terapia parenterale viene usato solfato di Mg, che corregge il deficit in 3-5 giorni poiché il Mg viene immagazzinato lentamente nelle cellule (replezione completa in 3 o più settimane).

L'ipomagnesiemia va corretta per il 40-50% in 1ª giornata e completata nei 2-3 giorni successivi: nei pazienti con normale funzione renale è opportuno somministrare 50 mEq di Mg per e. v. in 4-6 h, non superando 100 mEq nelle 12 h e 48 mEq/*die* nei 2-5 giorni successivi. L'infusione e. v. non deve avere una velocità superiore a 1 mEq/min, e la





Digitized by Google

**TAB. VIII. IPOMAGNESIEMIE: SINTOMI E SEGNI PRINCIPALI**

| |
|---|
| Diminuzione della concentrazione plasmatica di Mg |
| Diminuzione della escrezione urinaria: < 1 mmol/l (ad eccezione delle ipomagnesiemie da ridotto riassorbimento tubulare renale) |
| Tetania, non distinguibile clinicamente dalla tetania ipocalcemica |
| Sintomi neuropsichici: tremori, movimenti coreoatetosici, fascicolazioni linguali, ipersudorazione, iperacusia, atassia, vertigine, diminuzione della forza muscolare, turbe del comportamento, delirio, crisi convulsive, coma |
| Alterazioni cardiache: maggiore incidenza di prolasso della mitrale |
| Modificazioni elettrocardiografiche: sottoslivellamento di ST e inversione di T (invece dell'allungamento di QT presenti nella ipocalcemia), aritmie diverse comprendenti tachicardia e fibrillazione ventricolare, aumento di tossicità dei glicosidi cardiaci |
| Ipocalcemia non o mal corretta da somministrazione di sali di calcio: l'ipomagnesiemia può dare ipocalcemia per inibizione della secrezione di PTH, per l'inefficacia del PTH, per azione diretta sull'osso, per interferenza con la 25-idrossilazione della Vit. D |
| Ipokaliemia con deficit intracellulare per associate patologie disperdenti Mg e K, o per iperkaliuria da aumentata permeabilità cellulare secondaria a ipomagnesiemia |
| Aumento del colesterolo sierico e delle beta-lipoproteine, riduzione delle alfa-lipoproteine |

somministrazione i. m. deve essere di 16 mEq ogni 4 h in 1ª giornata e 24 mEq/*die* nei giorni seguenti fino a scomparsa dei sintomi, con successivo apporto *per os*: durante la terapia è opportuno controllare ripetutamente la magnesiemia e la magnesiuria. Nei pazienti con insufficienza renale le dosi di solfato di Mg devono essere ridotte in proporzione al valore del filtrato, monitorando i parametri suddetti. In presenza di una perdita renale cronica di Mg, va preferita la terapia orale evitando il solfato di Mg che può provocare diarrea, ma è preferibile somministrare una pozione così composta: cloruro di Mg (4 g), citrato di Mg (6 g), acqua (100 g); tale pozione contiene 0.8 mEq di Mg per ml e la dose da somministrare corrisponde a 1-3 mEq/kg/*die* in base al deficit del Mg.

**Bibliografia**


Anast C. S., Gardner D. W., in Bronner F., Coburn J. W. eds., *Disorders of Mineral Metabolism*, 1981, Academic Press, New York, p. 423.
A Symposium: Magnesium Deficiency, *Am. J. Card.*, 1989, **63** (14), pp. 1G-46G.
Brautbar N., Massry S. G., in Maxwell M. H., Kleeman C. R., Narins R. G. eds., *Clinical Disorders of Fluid and Electrolyte Metabolism*, 1987, McGraw-Hill Book, New York, p. 831.
Durlach J., *Le Magnesium en Pratique Clinique*, 1985, Medicales Internationales, Paris.
Ebel H., Gunther T., *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 1980, **18**, 257.
Goldberg M., Agus Z. S., Goldfarb S., in Brenner B. M., Rector F. C. eds., *The Kidney*, 1976, Saunders, Philadelphia, p. 372.
Massry S. G., in Earley L. E., Gottschalk C. W. eds., *Diseases of the kidney*, 1979, Little Brown, Boston, p. 1639.
Quamme G. A., Dirks J. H., in Maxwell M. H., Kleeman C. R., Narins R. G. eds., *Clinical Disorders of Fluid and Electrolyte Metabolism*, 1987, McGraw-Hill, New York, p. 297.
Richet G., Ardaillou R., Amiel C. *et al.* (ed. ital. a cura di U. Butturini), *Equilibrio Idroelettrolitico Normale e Patologico*, 1981, La Goliardica, Parma.
Sutton R. A. L., Dirks J. H., in Brenner B. M., Rector F. C. eds., *The Kidney*, 1986, 3 ed., Saunders, Philadelphia, p. 551.
Wilkinson R., in Nordin B. E. C. ed., *Calcium, Phosphate and Magnesium Metabolism*, 1976, Churchill Livingstone, Edinburgh, p. 36.


ALMERICO NOVARINI

**MAGNETOENCEFALOGRAFIA**: v. ELETTROENCEFALOGRAFIA* [col. 2494]

## MAGNETOTERAPIA

F. *magnétothérapie*. - I. *magnetotherapy*. - T. *Magnetotherapie*. - S. *magnetoterapia*.

SOMMARIO



### Definizione e generalità

La magnetoterapia consiste nell'utilizzazione di energia elettromagnetica a scopo terapeutico. Viene utilizzata nell'ambito della fisiochinesiterapia a scopo antalgico, ovvero per stimolare la rigenerazione tessutale e, in particolare, ossea. Per la trattazione dei fenomeni fisici che sono alla base del magnetismo e, quindi, della m., come pure per le basi biologiche di quest'ultima, si rimanda alla voce MAGNETISMO E ELETTROMAGNETISMO (IX, 40).

### Indicazioni e controindicazioni

I vantaggi della m. nel trattamento delle fratture sono essenzialmente tre: 1) la metodica non prevede atti chirurgici, escludendo così i rischi ad essi legati; 2) il trattamento può essere fatto anche attraverso un apparecchio gessato nei casi di osteosintesi eseguite con leghe non magnetizzabili; 3) la metodica non produce effetti collaterali locali o generali e non induce demineralizzazione sul segmento osseo trattato.

Controindicazione assoluta al trattamento con campi magnetici pulsati è la presenza di *pacemaker*, specie quando il campo magnetico investe anche perifericamente l'apparecchio di stimolazione cardiaca. Non vi è invece necessariamente una controindicazione nel trattamento di lesioni dei segmenti distali (ginocchio, gomito, mano, etc.) nei pazienti portatori di detti apparecchi. Nei soggetti portatori di protesi o mezzi di sintesi magnetizzabili è bene, in linea generale, evitare applicazioni di m., anche se, alcuni dei materiali attualmente in uso, come l'AISI 316 e il vitalium, non essendo magnetizzabili, non costituiscono controindicazione. Una vite o una *fiche* di fissatore esterno immessa nel campo magnetico non crea nessun fenomeno di alisteresi intorno al mezzo di sintesi. Il trattamento con campi magnetici pulsati nelle osteosintesi eseguite con materiale magnetizzabile può favorire un'indesiderata apposizione ossea intorno al mezzo di sintesi (che si comporta come elettrodo negativo) e riassorbimento nel tessuto osseo circostante (che si comporta come elettrodo positivo). Per ovviare a questo fenomeno è sufficiente invertire periodicamente la polarità dei solenoidi contrapposti, oppure eseguire periodici controlli radiografici a distanza di tre o quattro settimane al fine di effettuare una tempestiva rimozione dei mezzi di sintesi o la sospensione del trattamento fisioterapico in caso di riassorbimento osseo.

Una controindicazione temporanea della m. è stata individuata nell'artrotomia eseguita da meno di 15 giorni poiché la tecnica in questi casi facilita la formazione di aderenze fra la sinoviale e le lesioni articolari. Un'erronea indicazione della m. è costituita dalle sindromi da compressione di radici e di nervi periferici nella fase che precede la rimozione delle cause compressive.

Per ciò che riguarda la scelta del tipo di solenoidi (contrapposti o a cilindro), va rilevato che negli arti l'efficacia biologica massima si ottiene con solenoidi contrapposti che creano un'induzione elettromagnetica prevalentemente orientata lungo l'asse dei vasi e dei nervi. Viceversa, nel tronco, ove l'andamento della vascolarizzazione e dell'innervazione risulta grossolanamente trasversale è indicato



Digitized by Google

l'uso del solenoide a cilindro. Per quanto riguarda il cranio, la faccia e gli organi annessi, essi risentono favorevolmente dei campi magnetici indotti sia con il cilindro sia con solenoidi contrapposti. Nelle lesioni delle parti molli, sia superficiali che profonde, non associate a lesioni dell'apparato scheletrico, buoni risultati sono ottenibili mediante l'uso di un'onda elettromagnetica positiva generata da due solenoidi contrapposti.

I tempi di trattamento possono essere vari, ma solo le lesioni cutanee e quelle delle parti molli dovute ad insufficienza arteriosa necessitano di prolungati trattamenti per evitare recidive locali solitamente molto più resistenti.

Sono ben note le guarigioni entro due mesi-due mesi e mezzo dall'inizio del trattamento nelle *ulcere dei soggetti diabetici* indipendentemente dalla causa (ulcerazione spontanea, trauma diretto o intervento chirurgico).

Tutt'altro che infrequenti sono le ulcere che si sviluppano in apparecchio gessato per compressione diretta in corrispondenza di salienze ossee (malleoli, calcagno, etc.) o provocate da pressioni sull'apparecchio gessato volte a mantenere ridotti i monconi di frattura; esse trovano ottima guaribilità tramite l'uso associato di medicazioni e m.

Nelle *lesioni da schiacciamento* l'utilizzo dei campi magnetici a solenoidi contrapposti stimola fortemente la crescita del tessuto connettivo giovane che ingloba e ricopre l'esposizione ossea, muscolare o tendinea costituendo, nel caso di lesioni molto ampie, un ottimo terreno all'innesto dermo-epidermico.

L'esperienza clinica ha dimostrato che questa forma di energia può e deve essere utilizzata in tutte le *lesioni nervose periferiche* in cui vi sia stata una lesione anatomica del tronco del nervo periferico o una sofferenza irritativa o deficitaria come nel caso delle sindromi canalicolari. Anche le compressioni della *cauda* o quelle monoradicolari dovute a fratture vertebrali con associate lesioni nervose funzionali e le compressioni midollari parziali con deficit motori periferici, risentono favorevolmente del trattamento magnetoterapico ed il recupero funzionale, oltre ad essere più rapido, sembra anche più completo.

Le *cicatrici cheloidee* post-chirurgiche, specie se recenti, ed i ben più gravi cheloidi da ustione per lo più dovuti ad ustioni da acqua bollente in soggetti in accrescimento, essendo notevolmente deturpanti e comportanti di solito una grave limitazione funzionale specie in corrispondenza di grandi articolazioni, traggono giovamento dall'uso dei campi magnetici pulsati, migliorando in tempi brevi.

L'uso della m. si estende inoltre al trattamento di alcune affezioni ortopediche tra le quali il morbo di Perthes, la necrosi asettica della testa femorale, l'artrosi post-traumatica e i disturbi di consolidazione.

Nel *morbo di Perthes*, il trattamento dei pazienti con campi magnetici pulsati, associati talvolta ad altri trattamenti (staffa di Thomas, oppure scarico totale, a seconda della gravità della lesione), ha dato buoni risultati senza che siano residuate alterazioni né dell'angolo di inclinazione né dell'angolo di declinazione femorale e la guarigione è avvenuta in tempi sicuramente più brevi.

Nei casi di *necrosi asettica della testa femorale* e nei *ritardi di consolidazione* e *pseudoartrosi*, l'associazione della m. ad intervento chirurgico di infissione di 4-5 chiodi percutanei transtrocanterici e, rispettivamente, alla tecnica della osteosintesi compressiva, ha dato molto spesso risultati favorevoli.

Nelle *osteomieliti acute* gravi, specie se conseguenti a fratture esposte con ampia sofferenza dei tessuti molli adiacenti e con perdita di sostanza ossea o di parti molli (forme difficilmente dominabili soprattutto per l'instaurarsi di superinfezioni da germi anaerobi), l'associazione della m. alla terapia antibiotica permette una somministrazione dei farmaci a dosi minori e per periodi più brevi. Anche nelle *osteomieliti croniche*, specie se fistolizzate da 10 o più anni, il trattamento con campi magnetici pulsati permette guarigioni spesso insperate. In questi casi l'efficacia terapeutica sarebbe dovuta non ad un effetto diretto di tale forma di energia sui germi, quanto piuttosto ad un aumento della reattività dei tessuti molli intorno all'osso e ad una stimolazione dei processi riparativi aspecifici esplicata dalla proliferazione di tessuto connettivo.

Tra le altre malattie ortopediche che possono giovarsi del trattamento magnetoterapico si possono menzionare l'*atrofia ossea post-traumatica di Sudek* e l'*algodistrofia*.

Altra indicazione al trattamento con campi magnetici pulsati è rappresentata dalla piccola traumatologia di cui fanno parte le contusioni senza ematomi né soffusioni emorragiche, le distorsioni muscolari e tendinee, le distorsioni di ginocchio senza versamento, etc. I risultati sono spesso soddisfacenti, con regressione della sintomatologia in 3-4 giorni, purché il trattamento venga iniziato nello stesso giorno in cui è avvenuto il trauma o meglio ancora immediatamente dopo che siano stati espletati gli esami strumentali (radiografie ed ecografie) volti a formulare una diagnosi precisa.

**Bibliografia**


Bassett C. A. L., Pawluk R. J., *J. Biomed. Mater. Research*, 1975, **9**, 371.

Bassett C. A. L., *Pulsing Electromagnetic Fields; a New Approach to Surgical Problems*, in Buchwald H., Varcho R. eds., *Metabolic Surgery*, 1978, Grune & Stratton, New York.

Becker R. O., *J. Bioelectr.*, 1984, **3**, 105.

Bersani F., *Premesse fisiche agli effetti biologici dei campi magnetici, Atti del I Congresso Internazionale di Magnetomedicina*, Rapallo, 27-28 ottobre 1979.

Gross L., *Biological Effects of Magnetic Fields*, 1984, vol. I, Plenum Press, New York.

Marino A. A., Becker R. A., *Nature*, 1970, **228**, 473.

Parkinson W. C., *Ann. Biomed. Engineering*, 1985, **13**, 491.

Presman A. S., *Electromagnetic Fields and Life*, 1970, Plenum Press, New York.

Yasuda I., *Ann. N. Y. Acad. Sci*, 1974, **238**, 457.

Yasuda I., *Clinical Orthopaedics*, 1977, **124**, 53.

Zimmerman M., Parsons J. R., Alexander H., Weiss A. B., *J. Biomed. MR*, 1984, **18** (8), 927-938.


ETTORE SOMMA E GIUSEPPE FILONI

## MAGREZZE [v. vol. IX, col. 50]

### Generalità

Dall'ultima stesura di questa voce i contributi sull'argomento sono stati numerosi e talora profondamente innovativi. In particolare, la disponibilità di nuove tecniche diagnostico-strumentali ha consentito di acquisire conoscenze più precise sulla composizione corporea e lo stato nutrizionale effettivo delle magrezze e sulle caratteristiche metaboliche ed endocrine di ciascuna di esse.

Sulla scia delle conoscenze sull'argomento si può confermare ancora oggi che il concetto di m. resta prevalentemente clinico, basato sul grado di compromissione trofica generale di cui la perdita del peso corporeo e della massa adiposa sono la manifestazione più evidente. Ciononostante si è tentato di quantificare tale termine rapportandolo a valori teorici ritenuti «ideali»; pertanto per parlare di m. si è convenuto che il peso corporeo debba essere ridotto di almeno il 15% e la massa adiposa a meno del 5% della massa corporea totale.

### Etiopatogenesi e classificazione

Le m. possono essere *primitive*, con carattere di staticità, e non dipendere da alcuna causa apprezzabile.





Digitized by Google

Spesso però sono precedute da una fase dinamica di dimagrimento ed appaiono *secondarie* a cause varie che possono incidere od interferire con:
a) assunzione di alimenti (obbligata o volontaria);
b) alterata digestione od assorbimento del cibo;
c) perdita di substrati nutritivi;
d) mancata utilizzazione od eccessivo dispendio energetico.

Nelle m. primitive dette anche «costituzionali» il deficit ponderale è l'unico dato clinico apprezzabile; il quadro metabolico ed endocrino non si scosta da quello del soggetto normale e solo in particolari condizioni può svelare una potenziale insufficienza funzionale.

Fra le m. secondarie ritroviamo quella conseguente a malnutrizione (globale, proteicocalorica o vitaminica). I quadri clinici ed umorali sono ben conosciuti. Si pensava che questa patologia, dopo l'ultima guerra, fosse un triste ricordo mentre è drammaticamente riesplosa soprattutto in Africa, America Latina e solo radicali interventi politicosociali possono risolvere l'annoso problema.

Ridotta alimentazione si rileva anche nell'anoressia nervosa: le recenti acquisizioni hanno chiarito l'intervento del sistema nervoso sul comportamento alimentare e viceversa. Ricordiamo solo che studi di biochimica cerebrale hanno confermato — in analogia a quanto riscontrato nelle sindromi depressive — che anche nelle m. ed in particolare nell'anoressia nervosa è presente una ridotta attività dei neurotrasmettitori — adrenergici e serotoninergici — cui consegue anoressia ed ipoalimentazione.

Sotto il profilo endocrinologico la m. da anoressia nervosa è quella maggiormente studiata. Primeggia l'ipogonadismo ipogonadotropo, di cui l'amenorrea è il sintomo rivelatore.

Studi recenti hanno però svelato che il deficit di LH è maggiore di quello di FSH; vi è inoltre una scarsa risposta ai test di stimolo ed il ritmo circadiano è di tipo puberale (prevalenza dei valori notturni su quelli diurni). La secrezione di ormone somatotropo è elevata, con normale risposta alle prove di stimolo. La PRL è normale.

La funzione tiroidea è sovrapponibile a quella che si riscontra nella sindrome da bassa T3 con aumento della T3-*reverse* a giustificazione di alcuni aspetti clinici propri dell'insufficienza tiroidea.

Anche il surrene partecipa allo squilibrio ormonale dell'anoressia nervosa con alti valori di cortisolo ematico ed urinario disgiunti da sintomi di ipersurrenalismo, forse per mancata risposta recettoriale. La mancata pulsatilità del sistema ACTH secernente è un'ulteriore conferma che nell'anoressia nervosa è presente un danno funzionale ipotalamico al quale parteciperebbe anche la pineale. Le alterazioni della secrezione e del bioritmo della melatonina indicherebbero una responsabilità nel condizionare la secrezione di ormoni gonadotropi nell'anoressia nervosa.

Poco di innovativo abbiamo da segnalare per le m. nelle malattie endocrine e nella cachessia di Simmonds, nelle malattie gastroenteriche ed epatopancreopatie, nelle infezioni e stati tossici, nella cardiopatie croniche e nelle neoplasie.

Nella letteratura più recente hanno assunto dignità nosografica le m.:
a) dei pazienti affetti da pneumopatie croniche ostruttive, specie nelle fasi più avanzate; ne sarebbero responsabili alterazioni neuropeptidiche con la conseguente anoressia e l'ipermetabolismo sostenuto dall'ipercapnia;
b) dei soggetti che praticano intensa attività sportiva aerobica: alla perdita di peso da eccessivo consumo contribuisce in questi casi anche la ridotta alimentazione; infatti è stato dimostrato come a seguito di esercizio fisico intenso si abbia una maggiore concentrazione di 5-idrossitriptamina a livello ipotalamico con aumento del senso di sazietà.

Le cause della perdita di peso e di massa adiposa sono sempre quelle che abbiamo sopraelencato. In alcune può prevalere la partecipazione anoressica, in altre l'eccessivo dispendio energetico o la perdita di substrati nutritivi, condizioni che vanno corrette con adeguata terapia.

**Bibliografia**

Bonati B., Brambilla F., Della Casa L., Ferrari E., Moja E. A., Riva P., *Le magrezze*, Atti dell'89° Congresso della Società Italiana di Medicina Interna, 1988, Pozzi, Roma.

LUCIANO CIAMPALINI E PAOLO CIAMPALINI

## MALARIA [v. vol. IX, col. 64]

SOMMARIO



### Introduzione

Il deterioramento della situazione della malaria negli ultimi 10-15 anni è in gran parte dovuto alla rapida diffusione dei ceppi di *Plasmodium falciparum* clorochino- e polichemioresistenti ed alla tossicità di molti farmaci alternativi. La chemioresistenza di *P. falciparum*, come la resistenza etologica e genetica dei vettori anofelini al DDT prima ed agli altri insetticidi poi, già manifestatasi dagli inizi degli anni '60, hanno reso impossibile l'eradicazione della malattia nelle regioni ad alta endemia ed estremamente difficoltoso il suo controllo.

Le difficoltà operative nel controllo della m. nelle zone endemiche sono notevolmente aggravate dalle conflittualità, esterne ed interne, in molti paesi in via di sviluppo, con spostamenti delle popolazioni, deterioramento delle condizioni socioeconomiche, collasso delle strutture sanitarie e drastica riduzione dei programmi antimalarici.

Le migrazioni, per motivi economici e politici, di gruppi di persone o intere popolazioni provenienti da paesi ad alta endemia malarica si riflettono, nei paesi industrializzati, con l'aumento dei casi di m. da importazione rilevati annualmente. Tale aumento ha sensibilizzato la classe medica di questi paesi ad una maggiore attenzione per la diagnosi della malattia, con la conseguente diminuzione dei casi mortali, dovuti ad infezione da *P. falciparum* tardivamente diagnosticati, ma ha anche reso più evidente il rischio dell'instaurarsi di focolai epidemici laddove esista anofelismo residuale.

Non è da trascurare il fatto che l'aumento del numero di individui portatori di parassiti malarici in una comunità indenne dalla malattia, comporta il rischio di contrarre la m. trasfusionale e, più ancora, la m. «da siringa» fra i tossicodipendenti.

Se si considera il fatto che il 48% della popolazione mondiale vive in territori nei quali esiste, in varie gradazioni, il rischio di contrarre infezione malarica, appare evidente che il continuo movimento di individui e gruppi di persone per motivi turistici, lavorativi, economici, sociali, politici, come pure il trasporto — soprattutto per via aerea — di insetti vettori, aumenta notevolmente la possibilità della diffusione della m.

La ricerca di nuovi farmaci antimalarici è seguitata alacremente in questi anni, come pure quella sulle modalità di azione dei farmaci già conosciuti e sui loro eventuali effetti collaterali o tossici. È già in commercio (ma non in Italia) un nuovo preparato fenantrenmetanolico, l'halofantrine; si sta verificando l'efficacia di un derivato dell'*artemisina*,



Digitized by Google

l'arthemeter, come pure l'azione antimalarica di un derivato chinolonico, la norfloxacina. Di notevole interesse sono risultati gli studi sull'azione di un calcioantagonista, il verapamil, nel potenziare l'azione schizonticida di alcuni chemioterapici, come la clorochina, sui ceppi di *P. falciparum* clorochino-resistente, attraverso un meccanismo di inibizione della fuoriuscita del farmaco dall'interno del parassita, come pure lo studio di immunoglobuline, capaci di risolvere la citoaderenza parassitaria.

Si sono notevolmente sviluppati gli studi immunologici, grazie all'estendersi della tecnica delle colture continue di *P. falciparum*, all'isolamento delle frazioni peptidiche, degli antigeni specifici, degli anticorpi monoclonali e all'applicazione della tecnica del DNA ricombinante e delle sonde di DNA. Attuali sono lo studio e l'applicazione sperimentale di vaccini antimalarici nell'uomo, anche se l'impiego di tali vaccini su vasta scala, nelle regioni ad alta endemia malarica, richiederà ancora tempo e lavoro.

**Epidemiologia**

L'OMS prepara dei *Reports* annuali sulla situazione della m. nelle varie regioni, secondo una classificazione in uso da anni. I dati riportati riguardano il numero di casi di m. denunciati da molti paesi, i casi di m. di importazione nei paesi indenni, la popolazione attuale ed il grado di trasmissione. Purtroppo questi dati sono deficitari: l'informazione ufficiale fornita da molti paesi all'OMS è spesso incompleta e non rappresenta la reale situazione epidemiologica, cosicché è necessario, per avere un più preciso quadro, ricorrere ad altre fonti al di fuori di quelle ufficiali. Spesso, in uno stesso paese, i dati sulla distribuzione della m. nelle varie aree sono imprecisi ed incompleti ed il calcolo del «rischio» di infezione può risultare non esatto. Il criterio diagnostico può variare a seconda della disponibilità di strutture sanitarie e personale competente. Questa carenza è particolarmente evidente per i dati che si riferiscono all'Africa a sud del Sahara, che vengono spesso estrapolati da ricerche limitate a gruppi di popolazioni, nonché dai casi febbrili acuti, non specificamente diagnosticati, e dai tassi di mortalità riportati dai Centri di Salute Primaria (Primary Health Care), specialmente per le categorie a rischio: bambini di età inferiore a 5 anni e donne in gravidanza.

Il totale dei casi di m. riportati dall'OMS dal 1980 al 1987 (tab. I) è praticamente stazionario negli ultimi 3 anni. Da tale totale è però esclusa la regione africana a Sud del Sahara per i motivi esposti sopra. Secondo l'OMS in questa regione, basandosi su ricerche parassitologiche e rilievo dei casi febbrili acuti, si può calcolare una incidenza di 88 milioni di nuovi casi di m. ogni anno ed una prevalenza di 249 milioni di portatori di parassiti. Secondo J. R. Baker (1989) si può calcolare, per il 1986, su un totale di 97 paesi con endemia malarica, valutando come particolarmente a rischio la fascia d'età inferiore a 15 anni, una prevalenza globale della m. di 489 milioni di casi, di cui 234 milioni dovuti ad infezione da *P. falciparum* con almeno 2,3 milioni di casi letali.

Sempre nell'Africa sub-sahariana l'endemicità raggiunge i livelli più alti del mondo, con vaste aree classificate come *oloendemiche* (foresta umida e savana ad altitudini fino a 1000 m e piovosità oltre i 2000 mm/anno). Con altitudini al di sopra dei 1500 m e piovosità inferiore ai 1000 mm/anno, il grado di endemicità decresce e, di conseguenza, aumenta il potenziale epidemico. A causa del forte aumento della piovosità stagionale si presentano, con andamento quasi ciclico, epidemie o marcate esacerbazioni endemiche, come recentemente osservato in Botswana, Madagascar, Rwanda, Swaziland e Zambia. Esacerbazioni di tipo epidemico-stagionale (giugno-settembre) sono state da noi personalmente osservate nel 1986-'87-'88 in Somalia, nella regione del Medio e Basso Scebeli, in coincidenza con la stagione delle piogge.

Poiché la specie di parassita malarico predominante nella quasi totalità della regione africana è *P. falciparum*, è ovvio che il rischio di mortalità è elevato, specialmente nei bambini e nelle donne gravide. Tuttavia, anche in questo caso i dati relativi alla mortalità sono limitati e imprecisi.

Nel 1969 si valutò che la mortalità per m. si aggirasse intorno a 1 milione all'anno prevalentemente a carico della popolazione infantile. Nel 1983 si stimò, da dati ottenuti in Kenya e Nigeria, che la m. fosse responsabile del 20-30% dei casi di mortalità infantile. Ricerche epidemiologiche effettuate in Gambia nel 1987 valutarono la mortalità per m., nei bambini nella fascia di età compresa fra 1-4 anni, nell'ordine del 10,7 per 1000 ogni anno. Altri paesi africani (come Burkina Faso e Congo) hanno riportato tassi minori di mortalità infantile per m.

Un vasto studio (Hill *et al.*, 1991) compiuto su bambini dell'Africa Occidentale (Gambia) ha dimostrato l'importanza del sistema HLA nella protezione da m. da *P. falciparum*. Gli antigeni della classe I (HLA-Bw53) e un aplotipo della classe II (DRB1*1302-DQB1*0501) sono, indipendentemente, associati con una ridotta suscettibilità alla m. grave. La riduzione è comparabile a quella determinata dalla HbS.

È impressione degli operatori sanitari nella regione africana che la distribuzione di medicamenti antimalarici attraverso i Primary Health Care Centers, ai gruppi a rischio e nei casi febbrili sospetti, possa ridurre la mortalità per m. Il

**TAB. I. NUMERO DEI CASI DI MALARIA RIPORTATI DALLE REGIONI OMS (IN MIGLIAIA) - 1980/87 [a]**
(da *Weekly Epidem. Records*, n. 32 - 11 agosto 1989)

| Regione OMS | 1980 | 1981 | 1982 | 1983 | 1984 | 1985 | 1986 | 1987 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Africa [b] [c] | 7884 | 6754 | 6042 | 2726 | 4150 | 2896 | 2342 | 814 |
| America | 603 | 638 | 718 | 831 | 932 | 893 | 951 | 1010 |
| Sud-est Asiatico | 3784 | 3566 | 2964 | 2731 | 3003 | 2521 | 2581 | 2766 |
| Europa | 38 | 60 | 66 | 71 | 60 | 32 | 45 | 27 |
| Mediterraneo orientale | 138 | 207 | 308 | 305 | 335 | 391 | 610 | 564 |
| Pacifico occidentale | 3658 | 3464 | 2487 | 1839 | 1361 | 1065 | 786 | 758 |
| Totale in migliaia (esclusa l'Africa) | 8221 | 7935 | 6543 | 5777 | 5691 | 4902 | 4973 | 5126 |

[a] Le informazioni riportate non coprono il totale della popolazione a rischio. [b] Diagnosi clinica nella maggior parte dei casi. [c] Dati incompleti

comitato regionale dell'OMS nel 1987 ha raccomandato una strategia regionale per il controllo della m., attraverso un potenziamento della Primary Health Care. Uno dei maggiori impedimenti all'attuazione di detti programmi è la mancanza o la penuria di personale tecnicamente preparato per la loro pianificazione, organizzazione, controllo e valutazione.

Per quel che riguarda la m. d'importazione in Italia, dobbiamo ricordare che l'Africa è la fonte maggiore dalla quale provengono i casi osservati negli ultimi decenni. Dal punto di vista epidemiologico è importante ricordare che, secondo Coluzzi, i vettori anofelini del nostro paese, ancora abbondanti in alcune zone, come il Grossetano, non risultano biologicamente adatti allo sviluppo del cielo sporogonico dei ceppi africani di *P. falciparum*.

La situazione epidemiologica della m. in America Latina, che era molto migliorata a seguito delle campagne antimalariche, fino a portare a zero la mortalità per m. negli anni '70, in molti paesi si è rapidamente deteriorata fin dai primi anni '80 a seguito di cambiamenti politici e socio-economici e alla diminuzione delle risorse stanziate per i programmi antimalarici. La morbilità e la mortalità per m. sono aumentate e si è dimostrata inefficace una strategia di lotta antimalarica basata principalmente sull'applicazione di insetticidi residuali intradomiciliari.

Calcolando il tasso di infezione malarica per mille (popolazione in area originariamente malarica) possiamo osservare per il 1987 valori di 19,2 a Belize (7,5% da *P. falciparum*), 16,8 in Guatemala (4,9% da *P. falciparum*), 8,4 in Brasile (53,1% da *P. falciparum*), 11,1 in Ecuador (28,1% da *P. falciparum*), 24,7 in Guiana francese (81% da *P. falciparum*), 34,5 in Guiana ex inglese (66,3% da *P. falciparum*). Sempre per il 1987, come numero totale di casi denunciati all'OMS, i dati più rilevanti vengono dal Brasile (508.864), dal Messico (99.578), dalla Colombia (90.014), dall'Ecuador (63.503) e dal Guatemala (57.662). L'infezione da *P. vivax* rappresenta il 63% di tutte le infezioni, con *P. falciparum* predominante in Brasile, Haiti e Guiana.

Per quel che riguarda i casi denunciati per il 1987 dall'Asia ad ovest dell'India, emerge l'Afghanistan con un totale di 428.128 (dati incompleti) e con un tasso per mille persone (in area originariamente malarica) del 50,8 (0,8% da *P. falciparum*) ed il Pakistan con 64.342 casi, un tasso per mille persone dello 0,6 (35,2% da *P. falciparum*). L'India ha denunciato per il 1987 1.611.189 casi con un tasso per mille abitanti di zona malarica del 2,1 (36,8% da *P. falciparum*) e Sri-Lanka 676.569 casi con un tasso per mille del 55,4 (26,9% da *P. falciparum*).

La Cina, per lo stesso anno, ha riportato 210.614 casi con un tasso per mille dello 0,2 (3,8% da *P. falciparum*).

Il Sud-Est Asiatico, dove la diffusa chemioresistenza dei locali ceppi di *P. falciparum* aggrava la situazione del controllo, ha il maggior numero di casi denunciato per il 1987 dalla Thailandia: 321.510 con un tasso per mille di 6,9 (52,2% da *P. falciparum*) e dal Vietnam: 130.690, con un tasso per mille di 2,9 (53,6% da *P. falciparum*). Mancano i dati della Cambogia (Kampuchea Democratia) a causa della situazione politica. In questo paese, su una popolazione di 7,68 milioni di persone, 2,49 milioni vivono in area ad alta trasmissione malarica e, a causa dello stato di continua guerriglia, la morbilità e mortalità sono certamente aumentate.

Il Laos ha 34.960 casi denunciati per il 1987 ed un tasso per mille dell'11,6 (92,7% da *P. falciparum*).

In Indonesia tutti i casi di m. denunciati (19.309) provengono da Giava e Bali. Nelle Filippine 154.091 casi sono stati riportati nel 1987 (60,2% da *P. falciparum*).

Papua Nuova Guinea, le Isole Salomone e Vanuatu presentano alti tassi di infezione malarica per mille persone residenti in zona malarica: 47,2 (73,5% da *P. falciparum*), 248 (71,3% da *P. falciparum*), 190,2 (più di 70% da *P. falciparum*) rispettivamente.

In Europa i casi segnalati dalla Turchia, in cui si sono avute in passato epidemie da *P. vivax*, sono, per il 1987, 20.134 con un tasso per mille di 0,39 e nessun caso di infezione da *P. falciparum*.

Per quel che riguarda l'Italia, i casi denunciati negli ultimi anni ammontano a: 181 per il 1984, 178 per il 1985, 191 per il 1986, 287 per il 1987 e 350 per il 1988. La provenienza dei casi è di oltre l'80% dall'Africa, circa il 13% dall'Asia e del 6% dall'America Latina. Più del 65% dei casi osservati sono dovuti a *P. falciparum*, con *P. vivax* in minor percentuale (30%) e *P. malariae* circa il 5%. Ricordiamo infine l'insorgenza, nel 1981, di un piccolo focolaio epidemico, a Milano, fra tossicodipendenti.

Certamente il numero dei casi denunciati in Italia al Ministero della Sanità rappresenta solo una parte della realtà della m. di importazione. In molti casi, in particolare connazionali che si recano periodicamente per lavoro nei paesi tropicali o stranieri residenti in zone malariche, vengono assunti medicamenti antimalarici per iniziativa personale o a seguito di indicazione medica per trattare sindromi febbrili, considerate clinicamente di origine malarica, senza il necessario riscontro parassitologico. Tali casi non vengono denunciati, come pure è presumibile che altri casi, diagnosticati in strutture sanitarie non ufficiali, non vengano riferiti al Ministero della Sanità.

Riteniamo ragionevole aspettarci, per i motivi esposti nella trattazione di questo argomento, un progressivo aumento dei casi di m. d'importazione nel nostro paese, con la conseguente necessità della sensibilizzazione, per aspetti diagnostici e terapeutici della malattia, dei medici di base e dei diversi livelli degli operatori sanitari delle strutture pubbliche e private.

**Aspetti patogenetici e immunologici della malaria**

Nell'infezione malarica i rapporti ospite-parassita sono particolarmente complessi, poiché l'ospite vertebrato incontra i plasmodi malarici in fasi morfologiche ed antigeniche diverse, secondo il ciclo biologico del parassita. Il decorso dell'infezione è condizionato da numerosi fattori che possono favorire la sopravvivenza dell'ospite o del parassita.

Nell'uomo la resistenza all'infezione od alla malattia può dipendere da fattori congeniti indipendenti dall'infezione, o acquisiti conseguenti all'infezione e coinvolgenti le risposte immunitarie dell'ospite. Sia la resistenza congenita che quella acquisita sono condizionate da fattori genetici dell'ospite e, in aree di endemia, la m. ha esercitato una pressione selettiva tendente a mantenere un'elevata frequenza di geni collegati con la resistenza alla m.

È conosciuto da tempo che gli eritrociti umani possono influenzare il decorso dell'infezione malarica per effetto della diversa suscettibilità delle sottopopolazioni dei globuli rossi alle diverse specie di plasmodi. Infatti mentre *P. vivax* invade di preferenza i reticolociti e *P. malariae* i globuli rossi più maturi, *P. falciparum* invade tutte le sottopopolazioni eritrocitarie. Di conseguenza, l'infezione di questa ultima specie può estendersi a percentuali elevatissime dei globuli rossi dell'ospite (fino al 50%), mentre le altre due specie difficilmente invadono più dell'1% dei globuli rossi dell'ospite con minore influenza sulla mortalità dell'ospite stesso.

I recettori di superficie degli eritrociti per i merozoiti del parassita possono influenzare la capacità di attaccamento e penetrazione del parassita. Sono ben conosciuti due recettori di superficie per il




Digitized by Google

*P. knolewsi*: uno di questi, il sistema di gruppi sanguigni Duffy, è responsabile della penetrazione del merozoita nel globulo rosso; la sua assenza (Fy[a-b-]) è responsabile della resistenza dei globuli rossi alla penetrazione di *P. vivax*, nonché della resistenza congenita di alcune popolazioni all'infezione causata da questa specie parassitaria.

Altre ricerche indicano che alcune sialoglicoproteine (glicoforina A, B, C) presenti sulla superficie dei globuli rossi sono necessarie per l'attaccamento dei merozoiti di *P. falciparum* agli eritrociti e che la loro assenza riduce o blocca l'invasione parassitaria dei globuli rossi. Ben conosciuti inoltre sono i fattori intraeritrocitari, rappresentati da particolari emoglobine (Hb S, C, F) o da deficit enzimatici (G6PD), nel modulare la gravità dell'infezione.

La resistenza acquisita, già conosciuta e documentata dagli studi epidemiologici, dipende dal grado e dalla durata dell'infezione. L'immunità che ne consegue è di tipo anticorpale e cellulo-mediata, specie- e ceppo-specifica, probabilmente mantenuta da ripetuti contatti con il parassita e perduta, dopo breve tempo, in assenza di essi.

Lo studio delle colture plasmodiche, gli esperimenti su scimmie *Aotus trivirgatus* infettate con *P. falciparum* e lo studio del siero di gruppi di popolazioni residenti in aree endemiche, hanno permesso di valutare l'interazione antigene-anticorpo, sia *in vitro* che *in vivo*. La biologia molecolare ha fatto grandi progressi che permettono di sviluppare nuovi metodi per identificare parassiti e vettori, metodi che raggiungono il *core* genomico del microrganismo. Più importante è lo sviluppo di tecniche di identificazione del parassita o frazioni di esso per mezzo dei DNA *probes*, quali il *Southern blot* usato per l'identificazione delle sequenze DNA. Tale tecnica è stata usata, nella diagnostica della m., in alternativa a quella degli anticorpi monoclonali contro la *proteina circumsporozoita* (CSP) per l'identificazione di frazioni proteiche di *P. falciparum* nell'ospite vertebrato e nel vettore. Questa metodica è talmente sensibile da identificare circa 10 pg di DNA di *P. falciparum*, pertanto risulta particolarmente utile nelle ricerche sieroepidemiologiche.

Mentre l'immunità umorale nella m. è stata ampiamente studiata nei roditori, nei primati e nell'uomo, quella cellulo-mediata, studiata in passato nei roditori, rimane più difficile da valutare nell'uomo. La timectomia nel topo produce una grave esacerbazione dell'infezione da *P. berghei*, e nella stessa maniera agisce la somministrazione di siero antilinfocitario.

Negli anni più recenti, nuovi dati sperimentali hanno messo in evidenza l'importanza dell'attivazione dei macrofagi e delle cellule *natural killer* nel controllo dell'infezione malarica dell'uomo. L'attivazione di queste cellule determina la liberazione di linfochine come il *tumor necrotizing factor* (TNF) e di sostanze ossidanti (perossidi). Recenti ricerche (Clark, 1989) hanno dimostrato che gli anticorpi malarici, in assenza di lipopolisaccaridi, possono stimolare la liberazione di TNF: ciò potrebbe contribuire a comprendere la patogenesi della m. cerebrale. Infatti il TNF favorisce la produzione di trombospondina e quindi il «sequestro» intravascolare degli eritrociti infetti e inoltre potrebbe dar luogo ad un danno neurologico diretto.

Lo sviluppo del ciclo eritrocitario asessuato del parassita, specialmente durante la fase acuta dell'infezione da *P. falciparum*, dà luogo alla continua liberazione di antigeni parassitari ed antigeni modificati dell'ospite. Questi antigeni producono uno stimolo immunitario massivo che provoca non solo una risposta specifica antimalarica, ma anche un aumento generale dell'attività fagocitica delle cellule monocito-macrofagiche ed una intensa risposta mitotica delle cellule T e B. Come conseguenza di queste reazioni si osservano diverse alterazioni sierologiche (ipergammaglobulinemia, formazione di immunocomplessi circolanti ed attivazione del complemento). Alcune di queste alterazioni sono direttamente collegate a fenomeni patologici presenti nell'infezione malarica. Le glomerulonefriti, la epatosplenomegalia, l'anemia e le forme cerebrali sono fra le più conosciute.

La cosiddetta splenomegalia tropicale, già descritta in passato come una sindrome collegata all'infezione malarica, è attualmente riconosciuta come *Hypereactive Malarious Splenomegaly* (HMS: sindrome splenomegalica malarica iperreattiva) o *tropical splenomegaly syndrome*: sindrome splenomegalica tropicale. Essa è caratterizzata da un notevole aumento delle IgM sieriche, sieropositività per gli anticorpi anti-*P. falciparum*, linfocitosi sinusoidale epatica, splenomegalia marcata ed anemia. Tale sindrome, presente in prevalenza nelle regioni a m. mesoendemica, si riscontra anche in aree oloendemiche africane ed in Papua Nuova Guinea. Essa è legata a fattori immunologici conseguenti a ripetute infezioni malariche e si risolve con la somministrazione protratta di medicamenti antimalarici.

Nel corso del ciclo eritrocitario di *P. falciparum* si liberano antigeni solubili che possono combinarsi con gli anticorpi e formare immunocomplessi. Tale legame coincide con la diminuzione del C'3 e C'4 e l'apparizione nel plasma di C'3d, derivato dal C'3. Tali immunocomplessi sono associati con sindromi anemiche e glomerulorenali (glomerulonefrite acuta da *P. falciparum* e sindrome nefrosica da *P. malariae*). Alcuni mitogeni, prodotti da *P. falciparum*, inducono un'attivazione linfocitica policlonale e possono contribuire allo sviluppo della ipergammaglobulinemia nella m.

Nella m. cerebrale, studi al microscopio elettronico hanno messo in evidenza, sulla superficie dei globuli rossi parassitati da trofozoiti maturi o schizonti di *P. falciparum* ed aderenti all'endotelio vascolare, delle strutture neoformate a marcata densità elettronica, chiamate *knobs*. Tali strutture sembrano contenere frazioni antigeniche parassitarie ed essere sensibili all'azione degli specifici anticorpi antimalarici.

Recentemente è stata dimostrata l'inibizione di gameti di *P. falciparum*, *in vitro*, per l'azione di anticorpi monoclonali diretti contro la superficie dei gameti stessi.

**Vaccini antimalarici**

In questi ultimi anni, indagini sperimentali, in primo luogo quelle condotte da Ruth e Victor Nussenzweig dell'Università di New York su una serie di combinazioni ospite/plasmodio, hanno messo in evidenza una varietà di risposte immunitarie indotte dall'inoculazione sperimentale di merozoiti e sporozoiti nei primati, specialmente scimmie *Aotus* inoculate con *P. falciparum*, e in volontari umani.

L'immunità acquisita è stadio-, specie- e ceppo-specifica. Gli stadi di sviluppo del parassita capaci di stimolazione anticorpale specifica sono: lo sporozoita, il merozoita, il gametocita. L'intensità della immunità che deriva dalla vaccinazione e la durata di essa sono correlate a molteplici fattori. Tutti e tre gli stadi presentano delle molecole di superficie, caratterizzate da epitopi ripetitivi, che sembrerebbero altamente immunogeni. I risultati degli esperimenti sull'uomo sono basati sugli studi concernenti i cosiddetti vaccini sintetici (v. VACCINI*).

*Vaccini da proteina circumsporozoita (CS)*. – Studi di Good *et al.* (1988) hanno dimostrato che vaccini CS (costituiti da un tetrapeptide NANP, v. VACCINI*) contro *P. falciparum* hanno avuto un'azione protettiva parziale (2/9) su volontari umani, mentre la patenza parassitaria è stata ritardata in tutti i volontari. Ulteriori dosi di vaccino non hanno prodotto un effetto *booster* (richiamo) sui titoli anticorpali ed i linfociti dei soggetti vaccinati non hanno dato una reazione proliferativa in risposta all'antigene CS.





Digitized by Google

In successivi esperimenti è stato dimostrato che l'antigene CS non produce proliferazione dei linfociti T in oltre il 40% degli adulti residenti in regioni endemiche africane (Good *et al.*, 1988).

*Vaccini merozoitici.* – Sequenze basate su frammenti di PMMSA (*Precursor of Merozoite Major Surface Antigen*) e RESA (*Ring-infected Erythrocite Surface Antigen*) combinate in un vaccino ibrido, hanno dato solo parziale protezione dei soggetti volontari inoculati ed i livelli anticorpali ed i test di proliferazione linfocitaria non hanno dato risultati probanti (Good *et al.*, 1988).

*Vaccini gametocitici.* – Sono stati ottenuti buoni risultati nelle infezioni sperimentali di roditori, utilizzando antigeni di superficie dei gametociti (Good, 1988), ma gli esperimenti sull'uomo non hanno dato risultati soddisfacenti.

Gli esperimenti sulla m. dei roditori hanno messo in luce l'importanza dell'immunità cellulo-mediata in questo tipo di infezione. Così, mentre topi con deficit di linfociti B superano l'infezione da *P. chabaudi adami* e l'inoculazione di linfociti B «immuni» non protegge i topi inoculati con lo stesso parassita, si ottiene invece una immunità trasferita con linfociti T *helper* «immuni» (Good *et al.*, 1988).

Sembra chiaro, attualmente, che un efficace vaccino antimalarico può essere preparato solo a seguito di uno studio esauriente sulla natura delle risposte immunitarie all'infezione malarica. Tali vaccini dovrebbero stimolare l'immunità cellulo-mediata per controllare l'attacco iniziale, e forse anche le *memory cells* per evitare le susseguenti infezioni, e dovrebbero inoltre garantire un'efficace protezione nei confronti di tutti i vari stadi del parassita (McLaren e Terry, 1989).

La biologia molecolare ci può offrire il modo di identificare i potenziali antigeni inducenti un'immunità protettiva (forse antigeni nascosti, non soggetti agli attacchi immunitari) ed il sistema di produrre questi antigeni in quantità sufficiente, mentre la immunologia molecolare ci può aiutare a distinguere le risposte immunitarie efficienti da quelle non efficienti o perfino dannose.

**Farmacoresistenza**

La resistenza, cioè la capacità di un ceppo di *Plasmodium falciparum* di sopravvivere e moltiplicarsi in presenza di un farmaco schizonticida, è un fenomeno di grande rilevanza non solo per l'importanza che assume nel ritardare quel controllo della m. tanto auspicato, ma anche per le implicazioni che comporta nelle problematiche quotidiane connesse alla terapia, ma ancor più alla profilassi della malattia.

La resistenza alle 4-aminochinoline, iniziata negli anni '60 in Sud America e nel Sud-Est Asiatico, si è andata diffondendo e alla fine degli anni '70 ha fatto la sua comparsa nel continente africano; da allora i casi si sono moltiplicati e diffusi a macchia d'olio, tanto che attualmente ben cinquanta paesi sono interessati dal fenomeno (fig. 1, alle coll. 4769-4770).

La sensibilità dei plasmodi alle triazine (proguanil, clorproguanil) ed alle diaminopirimidine (pirimetamina) è anch'essa venuta meno da antica data e tali farmaci, ormai, non vengono più usati, se non in associazione ad altri, nella profilassi della m.

La resistenza alle associazioni sulfamidici-pirimetamina è di più recente acquisizione, ma ormai ampiamente diffusa, interessando non solo l'Amazzonia ed il Sud-Est Asiatico, ma anche vaste aree del continente africano (fig. 1).

Le resistenze al chinino, farmaco usato per la prima volta nel lontano 1820, comparvero già ai primi del secolo in Brasile, Vietnam, Cambogia, Malaysia. Tale farmaco, dopo un lungo periodo di disuso, in quanto sostituito nel trattamento della m. da farmaci più maneggevoli come la clorochina e le associazioni sulfamidici-pirimetamina, è attualmente considerato uno dei medicamenti più importanti nel trattamento delle forme resistenti e, data la rapida biodisponibilità, l'intensa azione schizonticida e la possibilità di somministrazione parenterale, il farmaco princeps nella terapia della m. grave e complicata. In verità sono di nuovo segnalati casi di resistenza manifestatasi però, sembra, in alcune evenienze, dopo somministrazione di dosi non adeguate del medicamento.

È comunque un fatto incontrovertibile che, laddove in precedenza dosi inferiori a quelle considerate attualmente terapeutiche e somministrate per periodi più limitati di tempo si dimostravano efficaci, ora, per poter giungere ad una clearance della parassitemia, sono necessari dosaggi più elevati e più prolungati nel tempo. Casi di recrudescenza sono però stati recentemente segnalati nel Sud-Est Asiatico, nel Gabon, nel Camerun, a Vanuatu anche quando il farmaco veniva somministrato alla dose e per il tempo usuali.

La meflochina è un farmaco ancora di indubbia efficacia, quantunque casi di resistenza siano stati osservati in Thailandia e nelle Filippine nel 1982 ed in Africa occidentale nel 1983. Resistenze alle associazioni meflochina-sulfamidici-pirimetamina (Fansimef®) sono state segnalate in Indonesia.

L'halofantrine (Halfan®) è un farmaco di troppo recente acquisizione e di non così vasto impiego per poter aver già indotto fenomeni di resistenza. Non risultano, almeno alla nostra conoscenza, casi di resistenza al quinghaosu (artemisina), principio in uso da antichissima data.

La comparsa di mutazioni è in genere la causa principale nel determinismo delle resistenze. In altre evenienze la resistenza può instaurarsi in seguito ad adattamenti fisiologici, con l'induzione di nuove vie metaboliche mediante azione di enzimi di solito non utilizzati, oppure può determinarsi in conseguenza di un eccesso di enzima per amplificazione genica.

La farmacoresistenza presenta anche un aspetto speculativo di ordine meno generale, qualora si debba trattare un caso di m. importata. È necessario in tale evenienza, oltre ad un'indagine anamnestica sulle aree di provenienza del soggetto e sugli eventuali farmaci usati sia a scopo profilattico che in precedenti tentativi terapeutici, procedere — qualora possibile — ai test per saggiare la resistenza *in vitro* sia alla clorochina che ad altri farmaci antimalarici. La scelta poi del medicamento, in attesa dei risultati di eventuali test, deve tener conto della gravità della forma clinica e della presenza o meno nelle aree interessate di resistenze alle 4-aminochinoline ed alle associazioni sulfamidici-pirimetamina.

È fuor di dubbio che, in caso di m. grave e complicata, è doveroso non perdere tempo prezioso con farmaci ai quali il plasmodio potrebbe — e ciò, come abbiamo osservato, non è raro — presentare delle resistenze, né ricorrere alla via orale anche se con medicamenti altamente efficaci come la meflochina, ma iniziare il trattamento con farmaci schizonticidi a rapida biodisponibilità, come il chinino, somministrati per via e. v.

La diffusione della farmacoresistenza è un problema grave e certamente limita la speranza di un contenimento della malattia, soprattutto laddove instabilità politiche, eventi bellici sempre più frequenti, sconvolgimenti naturali e comunque precarie condizioni socioeconomiche, rendono non facilmente attuabili interventi e programmi di controllo.

**Profilassi**

Nella prescrizione di un'adeguata profilassi antimalarica si deve tener conto degli eventuali rischi legati alla sommini-





Digitized by Google

strazione del medicamento, rapportandoli all'effettiva probabilità di contrarre la malattia.

La clorochina era il farmaco che un tempo univa l'efficacia alla tollerabilità. Il diffondersi delle resistenze ha costretto, particolarmente in determinate aree, a ricorrere a medicamenti che sfortunatamente presentano effetti collaterali a volte gravi. Infatti l'amodiachina, che sembrava più efficace della clorochina contro ceppi resistenti alle 4-aminochinoline, ha dimostrato reazioni avverse di una certa gravità, documentate da casi di agranulocitosi con incidenza, in alcune casistiche, di un caso su 2000 soggetti profilassati, tanto da sconsigliarne l'uso a scopo preventivo.

Anche le associazioni sulfamidici-pirimetamina, a parte le resistenze che si vanno sempre più estendendo, hanno indotto, se usati a scopo profilattico, gravi effetti collaterali come la sindrome di Stevens-Johnson, dermatiti esfoliative, che ne controindicano l'uso nella profilassi della m.

La meflochina, al momento, parrebbe il medicamento più utile in molti casi. A parte il pericolo di diffusione di resistenza, del resto già iniziata, e l'assoluta controindicazione nei primi mesi di gravidanza e nei bambini di peso inferiore ai 15 kg, tale farmaco può indurre effetti collaterali di una certa entità a carico soprattutto del S.N.C. che ne limitano la prescrizione, riservandola forse solo a casi di particolare necessità.

Il proguanil, il clorproguanil e la pirimetamina non sono più considerati efficaci per un'adeguata profilassi se usati da soli.

Le tetracicline a basso dosaggio alla dose, nell'adulto, di 100 mg *pro die* sono state impiegate con risultati promettenti nella profilassi della malaria da *P. falciparum* in Thailandia. Nei bambini, soprattutto se di età inferiore agli otto anni, è bene non ricorrere a tale medicamento per gli effetti negativi che potrebbe avere sull'accrescimento osseo e perché può causare una pigmentazione dentaria giallo-brunastra permanente.

L'OMS ha approntato una carta in cui le zone ad endemia malarica sono suddivise in tre vaste aree, indicate con le prime lettere dell'alfabeto (fig. 2).

Nell'area indicata con la lettera A, in cui *P. falciparum* risulta ancora sensibile alle 4-aminochinoline, è opportuno assumere a scopo profilattico, qualora non esistano controindicazioni, la clorochina al dosaggio nell'adulto di 300 mg di base una volta a settimana e nel bambino di 5 mg di base/kg suddivisi in 2 o 3 somministrazioni settimanali. Tale profilassi va iniziata una settimana prima della partenza e sospesa sei settimane dopo il rientro.

Nell'area indicata con la lettera B, in cui *P. falciparum* presenta resistenza alle 4-aminochinoline di tipo RI-RIf, è opportuno somministrare, sempre a scopo profilattico, clorochina al dosaggio nell'adulto di 300 mg di base 2 volte a settimana e nel bambino di 10 mg di base *pro* kg suddivisi in 2 o 3 somministrazioni settimanali, sempre iniziando una settimana prima dell'ingresso in area endemica e terminando sei settimane dopo l'allontanamento da detta zona.

Nell'area indicata con la lettera C, in cui *P. falciparum* presenta resistenze elevate alle 4-aminochinoline ed importanti alle associazioni sulfamidici-pirimetamina, la profilassi andrebbe effettuata con la somministrazione di clorochina ai dosaggi consigliati per coloro che si recano nella zona B in associazione al proguanil (Paludrine®), al dosaggio di 100 mg *pro die* nell'adulto e dosi minori nel bambino in rapporto al peso e all'età, sempre rispettando gli intervalli di tempo dovuti. In tali aree, in condizioni particolari e per periodi di tempo non prolungati, si potrebbe ricorrere — iniziando la settimana prima della partenza — alla somministrazione di meflochina al dosaggio nell'adulto di una compressa e nel bambino di 1/4, 1/2, 3/4 di compressa rispettivamente se di peso variante tra 15 e 19 kg, tra 20 e 30 kg e tra 31 e 45 kg, una volta a settimana per le prime 4 somministrazioni, proseguendo poi ogni 2 settimane fino ad 1 mese dopo il rientro (tab. If).

L'OMS consiglia in aggiunta o, a volte, in alternativa alla profilassi medicamentosa una protezione individuale contro il vettore, ricorrendo a zanzariere alle finestre o all'uso di repellenti chimici da spalmare sulle parti scoperte della cute soprattutto quando si rimane esposti durante le ore notturne (v. REPELLENTI PER INSETTI*).

Se nelle grandi metropoli tropicali il rischio di contrarre la m. è minimo, non così nelle aree non urbane, per cui in tali casi è sempre consigliabile, se non si attua un'adeguata profilassi farmacologica, evitare di uscire dopo il tramonto o, se indispensabile, proteggere la superficie cutanea con vestimenti adatti (pantaloni lunghi, calze, scarpe chiuse,

**TAB. II. PROFILASSI DELLA MALARIA**

| | Farmaco | Adulti | Bambini |
|---|---|---|---|
| Zona A | clorochina | 2 compresse a settimana da 1 settimana prima a 6 settimane dopo il rientro | 5 mg*/kg a settimana da 1 settimana prima a 6 settimane dopo il rientro |
| Zona B | clorochina | 2 compresse due volte a settimana da 1 settimana prima a 6 settimane dopo il rientro | 10 mg*/kg a settimana in due o tre somministrazioni da 1 settimana prima a 6 settimane dopo il rientro |
| Zona C | clorochina<br>+ | 2 compresse due volte a settimana | 10 mg*/kg a settimana in due o tre somministrazioni |
| | Paludrine® | 100 mg al dì da 1 settimana prima a 6 settimane dopo il rientro | metà o 1/3 dose da 1 settimana prima a 6 settimane dopo il rientro |
| | oppure | | |
| | meflochina | 1 compressa a settimana da 1 settimana prima per 4 settimane<br>poi<br>1 compressa ogni 15 giorni fino a 4 settimane dopo il rientro | 15-19 kg 1/4 compressa<br>20-30 kg 1/2 compressa<br>31-45 kg 3/4 compressa<br>da 1 settimana prima per 4 settimane<br>poi<br>ogni 15 giorni fino a 4 settimane dopo il rientro |

* Clorochina base



Digitized by Google

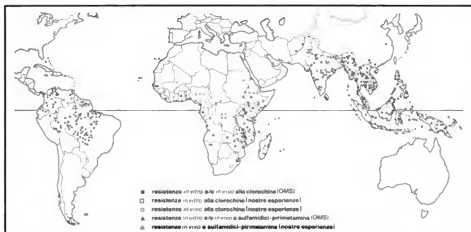



Fig. 1. Distribuzione geografica delle resistenze di *Plasmodium falciparum* alla clorochina e all'associazione sulfamidici-pirimetamina.

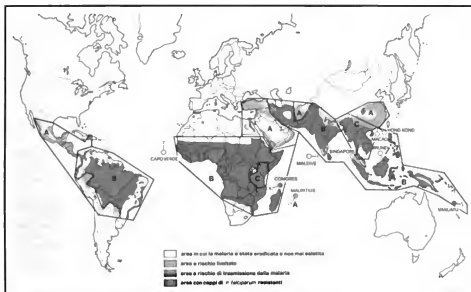



Fig. 2. Situazione epidemiologica della m. nel mondo. (*OMS, 1989*). Per A, B, C, cfr. testo.

camicie a maniche larghe e lunghe) cospargendo, come già detto, le superfici che rimangono scoperte, come il viso e le mani, con repellenti chimici.

Tutto ciò è soggetto a modifiche qualora nuovi farmaci, soprattutto se facilmente reperibili, possano rendere la profilassi più sicura ed efficace.

La messa a punto di un vaccino che induca la formazione di anticorpi protettivi risolverebbe non solo le problemati-





Digitized by Google

che legate alla profilassi, ma renderebbe attuabile quel controllo, quel contenimento della malattia che, con grandi difficoltà e con risultati non certo brillanti, si sta cercando di ottenere (cfr. Siddiqui, 1991). V. VACCINI* e v. sopra.

**Terapia**

La terapia della m. (tab. III) presenta alcune difficoltà legate, come per la profilassi, alle resistenze sempre più diffuse di *P. falciparum* non solo alle 4-aminochinoline, ma anche alle associazioni sulfamidici-pirimetamina.

Le forme da *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* e quelle da *P. falciparum* sensibile alle 4-aminochinoline vanno trattate con clorochina al dosaggio nell'adulto di 600 mg di base seguiti dalla somministrazione di 300 mg di base dopo 6 h e di 300 mg di base nei 2 giorni successivi. Nei bambini il dosaggio, dopo i 10 mg di base/kg iniziali, è di 5 mg di base/kg con gli intervalli dovuti. Alla via parenterale si ricorre sempre meno frequentemente sia per gli effetti collaterali gravi che spesso si verificano nei bambini nei quali, occorre rammentarlo, la somministrazione intramuscolare è tassativamente controindicata, sia perché le sempre più diffuse resistenze di *P. falciparum* consigliano nei casi gravi il ricorso a medicamenti di più sicura efficacia, come il chinino.

Nelle forme da *P. vivax* e *P. ovale* onde evitare recidive, in rapporto alla permanenza di *ipnozoiti* (cioè le forme esoeritrocitiche latenti) nel fegato, è opportuno ricorrere, qualora non sussistano controindicazioni, come una gravidanza al 1° trimestre o un deficit della G6PD, ad un trattamento radicale con una 8-aminochinolina, la primachina, somministrata al dosaggio nell'adulto di 15 mg di base e nel bambino di 0,3 mg di base/kg al giorno per due settimane.

Nei casi che dimostrano una minore sensibilità al medicamento, i dosaggi possono essere raddoppiati mentre, qualora vi sia una diminuita tolleranza al farmaco, si può ricorrere alla somministrazione una volta a settimana di 45 mg di base nell'adulto e di 0,9 mg di base/kg nel bambino per un periodo di 8 settimane.

Il farmaco, oltre alla sua azione schizonticida tessutale nelle forme esoeritrocitarie di *P. vivax* e *P. ovale*, possiede un'attività gametocitocida su tutte le specie di plasmodi.

Nelle forme di m. da *P. falciparum* resistenti alle 4-aminochinoline, ma ancora sensibili alle associazioni sulfamidici-pirimetamina, è opportuno avvalersi del Metakelfin® al dosaggio nell'adulto, a seconda se di peso inferiore o superiore ai 70 kg, rispettivamente di 2 o 3 compresse in unica somministrazione, o del Fansidar® in fiale al dosaggio, a seconda del peso, di 2 o 3 fiale per via intramuscolare e in unica soluzione.

Nei bambini si consiglia l'uso di dosi di 25 mg/kg, riferite al dosaggio del sulfamidico, sempre in unica somministrazione.

Il Fansidar® è reperibile in compresse ed in fiale da 2,5 ml contenenti sulfadoxina 500 mg e pirimetamina 25 mg,

**TAB. III. TERAPIA DELLA MALARIA**

| | Farmaci | Adulti | Bambini |
|---|---|---|---|
| Malaria da *P. ovale*, *P. vivax*, *P. malariae* | clorochina | 600 mg base → 300 mg base<br>300 mg base (2°-3° giorno) | 10 mg base/kg → 5 mg base/kg<br>5 mg base/kg (2°-3° giorno) |
| Malaria da *P. vivax* (trattamento radicale) | primachina | 15 mg base/*die*/14 giorni<br>30 mg base/*die*/14 giorni<br>45 mg base/settimana/8 settimane | 0,3 mg base/kg/*die*/14 giorni<br>0,6 mg base/kg/*die*/14 giorni<br>0,9 mg base/kg/settimana/8 settimane |
| Malaria da *P. falciparum* | | | |
| sensibile a 4-aminochinoline | clorochina | come sopra | come sopra |
| resistente a 4-aminochinoline | Metakelfin® | 2 compresse (3 compresse > 70 kg) | |
| | o<br>Fansidar® | 2 compresse (3 compresse > 70 kg)<br>2 fiale (3 fiale > 70 kg) | 25 mg/kg (rapportati al sulfamidico) |
| | o<br>meflochina | 3 compresse → 2 compresse (→ 1 compressa > 60 kg) | 25 mg/kg (unica somministrazione) |
| | o<br>halolantrine | 2 compresse → 2 compresse → 2 compresse ↓ 7 giorni (non immuni)<br>2 compresse → 2 compresse → 2 compresse | 10 mg/kg → 10 mg/kg → 10 mg/kg ↓ 7 giorni (non immuni)<br>10 mg/kg → 10 mg/kg → 10 mg/kg |
| resistente a 4-aminochinoline e sulfamidici-pirimetamina | chinino | 1800-2000 mg/*die*/10 giorni (*per os*) | 25 mg/kg/*die*/10 giorni |
| | o<br>meflochina | come sopra | come sopra |
| | o<br>halofantrina | come sopra | come sopra |
| Malaria perniciosa | chinino (in vena)*<br>+<br>tetraciclina (in vena) | → chinino orale<br><br>solo adulti | |
| | chinino (in vena)**<br>+<br>tetraciclina (in vena) | → meflochina<br><br>solo adulti | |

* 8,3 mg/kg diluiti in 400-500 ml soluzione fisiologica → 8,3 mg/kg ····→ chinino orale o meflochina.
** 16,6 mg/kg diluiti in 400-500 ml soluzione fisiologica → 8,3 mg/kg ····→ chinino orale o meflochina.



Digitized by Google

mentre il Metakelfin® è disponibile solo in compresse contenenti sulfametopirazina 500 mg e pirimetamina 25 mg.

L'azione farmacologica di tale associazione si compendia in un blocco sequenziale sulle tappe metaboliche che portano prima alla formazione di ac. folico e poi di ac. folinico.

Nelle forme di m. da *P. falciparum* resistente sia alle 4-aminochinoline che alla associazione sulfamidici-pirimetamina, il chinino per via orale, al dosaggio nell'adulto di 1,8-2 g *pro die* e nel bambino di 25 mg/kg/*die* per 10 giorni, dimostra ancora tutta la sua efficacia. Altro farmaco prezioso nelle forme resistenti è la meflochina (Lariam®) al dosaggio nell'adulto di 3 compresse seguite dalla somministrazione di 2 compresse dopo 6-8 h e, nei soggetti di peso superiore ai 60 kg, di una compressa dopo ulteriori 6-8 h. Nei bambini si consiglia un dosaggio pari a 25 mg/kg in unica somministrazione. Come il chinino, la meflochina, che è una 4-metanol-chinolina, sembra determini, complessandosi con la ferro-protoporfirina IX (FPIX), la formazione di un prodotto tossico con conseguenti alterazioni della membrana dei parassiti.

Nei casi di m. da *P. falciparum* polichemioresistente si può ricorrere alla halofantrine (Halfan®) alle dosi di 2 compresse da 250 mg per 3 volte a 6 h di distanza l'una dall'altra. Nei bambini il prodotto può essere somministrato in sciroppo al dosaggio di 10 mg/kg per tre volte sempre a distanza di 6 h. Il trattamento nei soggetti non immuni andrebbe, per evitare recrudescenze, ripetuto dopo 7 giorni. Il prodotto è controindicato in gravidanza e durante l'allattamento.

Quando poi un'alta parassitemia o la gravità del quadro clinico indichino che si è di fronte ad una m. complicata, cosiddetta «perniciosa», il trattamento deve essere precoce, effettuato con farmaci schizonticidi a rapida biodisponibilità, somministrati per via e. v. Il chinino è il medicamento che risponde meglio alle esigenze. È bene non indugiare ricorrendo alla somministrazione di farmaci come la clorochina o alle associazioni sulfamidici-pirimetamina ai quali i plasmodi potrebbero, e ciò non è raro, presentare resistenze, né far uso, come già detto, della via orale anche se con medicamenti altamente efficaci come la meflochina o l'halofantrine, la cui azione potrebbe essere fugata da un alterato assorbimento.

Il chinino per via e.v. alla dose di 8,3 mg/kg diluito in 400-500 ml di soluzione fisiologica si somministra lentamente in circa 4 h. Tali dosaggi vanno ripetuti ogni 8 h fino a che le condizioni del soggetto non permettano di passare alla via orale alle dosi usuali e per 10 giorni. È ammessa una dose iniziale pari a 16,6 mg/kg.

Dopo i primi giorni di trattamento si può sostituire il farmaco con la meflochina, iniziandone la somministrazione dopo 12 h dall'ultima dose di chinino. Una somministrazione iniziale di meflochina, data la lunga emivita, precluderebbe un eventuale trattamento con chinino.

Durante la terapia chininica è utile associare per una settimana un trattamento con tetracicline per via e. v. (tab. III).

Il quinghaosu (artemisina) estratto da una pianta, *Artemisia annua*, in uso da antichissima data come febbrifugo, ha dimostrato anche sperimentalmente la sua efficacia su ceppi di *P. falciparum* resistenti alla clorochina. Sembra che la sostanza interferisca, con meccanismo diverso da quello identificato per la clorochina, sulla sintesi proteica con alterazioni quindi dei mitocondri e conseguenti modificazioni di membrana.

L'artemisina si somministra, nell'adulto, in compresse al dosaggio complessivo di 2,5-3,2 g in 3 giorni o in soluzione oleosa od acquosa alla dose rispettivamente di 1,2 e 1,5 g in un periodo di tempo di 3 giorni.

L'artemeter, un derivato metiletere dell'artemisina, si è dimostrato efficace per via i.m. alla dose di 200 mg, seguita da 100 mg ogni 12 h per 2 giorni. A tali dosaggi si verificano, con entrambi i preparati, recrudescenze nel 30-39% dei casi.

Una nuova serie di chinolonici ad azione inibente sulla topoisomerasi II sta dimostrando un'interessante attività sulle forme eritrocitarie di *P. falciparum*. Così la norfloxacina, in un'esperienza effettuata *in vivo*, è risultata utile nel trattamento della m. da *P. falciparum* al dosaggio di 400 mg ogni 12 h per 7-10 giorni. Anche la ciprofloxacina, in uno studio sperimentale su colture di *P. falciparum*, ha dimostrato la sua efficacia.

Tali farmaci sono in genere controindicati in età pediatrica, in gravidanza e durante l'allattamento e se ne sconsiglia l'uso in soggetti nella cui anamnesi risultino episodi convulsivi.

È importante proseguire gli studi e le ricerche su questa classe di medicamenti, per le intuibili implicazioni pratiche nel trattamento di una malattia a così ampia diffusione e i cui agenti etiologici si stanno dimostrando resistenti a gran parte dei farmaci già in uso.

V. anche: ANTIMALARICI SINTETICI* (col. 697).

**Bibliografia**


Baker J. R., *Porasitology Today*, 1989, **5** (2), 6-9.
Bianchini C., *Microbiol. Med.*, 1988, **3** (2), 35.
Bianchini C., *Medicina – Riv. EMI*, 1989, **9**, 27.
Brabin J. B., *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1989, **83** (5), 577.
Clark I. A., *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1989, **83** (4), 436.
Esposito F. *et al.*, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1989, **83** (6), 803.
Gilles H. M., *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1987, **81** (5), 607.
Good M. F. *et al.*, *Immunology Today*, 1988, **9**, 351.
Halton C. S. R., Peto T. E. A., Bunch C., *Lancet*, 1986, **I**, 411.
Hill A. V. S. *et al.*, *Nature*, 1991, **352**, 595.
Holmberg M., Wigrell H., *Parasitology Today*, 1987, **3** (12), 380.
Krishna S., Davis T. M. E., Chan P. C. Y. *et al.*, *Lancet*, 1988, **I**, 28, 12-31.
McLaren D. J., Terry R. I., *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1989, **83** (2), 145; 178.
Miller K. D., Lobel H. O., Satriale R. F. *et al.*, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1986, **35**, 451.
Pang L., *Lancet*, 1987, **II**, 970.
Pang L. W., Limsomwong N., Boudreau E. F., Singharaj P., *Lancet*, 1987, **I**, 1161.
Perrin L. H. *et al.*, *Immunology of Malaria*, in W. F. Rox ed., *Clinical Immunology Update*, 1985, Elsevier, New York.
Peto T. E. A., Gilks C. P., *Lancet*, 1986, **I**, 1256.
Rieckmann K. H., *Lancet*, 1987, **II**, 507.
Sanguigni S., De Gregorio C. G., Cultrera R., Marangi M., *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1988, **82**, 359.
Sanguigni S., Marangi M., Cultrera R., Fratto N., De Gregorio C. G., Sebastiani A., *Parassitologia*, 1988, **30** (Suppl. 1).
Sarma P. S., *Ann. Intern. Med.*, 1989, **111**, 336.
Siddiqui W. S., *Drugs*, 1991, **41**, 1-10.
Srivastava I. K. *et al.*, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1989, **83** (3), 317.
Warhurst D. C., *J. Antimicrob. Chemother.*, 1986 (Suppl. B), 51.


CORRADO BIANCHINI E SERGIO SANGUIGNI

## MALASSORBIMENTO, SINDROME DA [v. vol. IX, col. 112]

SOMMARIO



### Diagnosi di laboratorio

La presenza di un malassorbimento [m.] può essere sospettata, oltre che sulla base dell'anamnesi e del quadro clinico, già in seguito ai comuni accertamenti laboratoristici. Questi



Digitized by Google

potranno, a seconda dei casi, mettere in evidenza una riduzione dei livelli della protidemia totale, dell'albumina sierica, della carotenemia, ovvero rivelare alterazioni della calcemia, della potassiemia e della magnesiemia, nonché diminuzioni della colesterolemia e della concentrazione sierica dell'ac. folico e della Vit. $B_{12}$. Più precise informazioni derivano comunque dall'uso di test diagnostici specifici.

*Test per il malassorbimento dei grassi*

*Analisi qualitativa dei grassi fecali.* – Questo test, semplice e rapido da eseguire, non ha, per la verità, una grande attendibilità diagnostica, a causa della sua scarsa sensibilità e specificità, e non dovrebbe quindi essere utilizzato, da solo, per formulare o escludere una diagnosi né per impostare una terapia (Sleisenger, 1983).

Per l'esecuzione, un campione di feci viene prelevato e posto su vetrino; a questo vengono aggiunti etanolo o ac. acetico e Sudan III o IV. Dopo essere stato miscelato e bollito, il campione viene osservato, ancora caldo, al microscopio ottico, dove i globuli di grasso appaiono di colore arancione. Per quantificare l'ammontare dei grassi fecali vengono utilizzati i criteri di Drummey (1961):

normale: fino a 100 globuli per campo, di diametro minore di 4 μm;

incrementato: fino a 100 globuli per campo, di diametro compreso tra 4 e 8 μm;

marcatamente incrementato: più di 100 globuli per campo, di diametro compreso tra 6 e 75 μm.

*Analisi quantitativa dei grassi fecali.* – La tecnica standard continua a essere la determinazione quantitativa dei grassi fecali mediante raccolta delle feci per 72 h, con un introito alimentare giornaliero di 100 g di grassi: il valore normale è > 7 *g/die*. La misurazione dei grassi fecali viene usualmente eseguita mediante il metodo titrimetrico (Van de Kamer, 1958) o gravimetrico (Henry, 1964). Queste metodiche sono però complesse e scarsamente accettate dal personale dei laboratori; anche quelle di più recente introduzione, quale l'analisi mediante risonanza magnetica nucleare, richiedono l'omogeneizzazione delle feci raccolte (Schneider, 1987).

Recentemente è stata proposta l'analisi dei grassi fecali mediante la spettrometria all'infrarosso (Benini *et al.*, 1989), semplice e rapida, che comporta il maneggiamento di piccoli campioni di feci, senza procedere alla raccolta giornaliera e alla loro omogeneizzazione. Di solito una steatorrea marcata (> 40 *g/die*) suggerisce la presenza di una grave insufficienza pancreatica o di ampie resezioni intestinali; una moderata steatorrea (25-40 *g/die*) è più comune nelle malattie della mucosa intestinale, mentre una lieve steatorrea (< 25 *g/die*) si osserva comunemente nelle forme da deficit di formazione micellare.

*Test di funzionalità pancreatica*

La sensibilità e la specificità delle varie indagini funzionali impiegate per la diagnosi del m. di origine pancreatica sono sinteticamente riportate nella tab. 1 (v. anche: PANCREAS*).

*Test di stimolazione pancreatica diretta.* – Non c'è ancora accordo universale sul tipo di agente da impiegare per stimolare la secrezione pancreatica (Niederau e Grendell, 1985): la secretina (SEC) è stata usata da sola (Peterson), o in combinazione con la colecistochinina (CCK) (Wormsley, 1969), la bombesina e la ceruleina, allo scopo di stimolare sia la secrezione di bicarbonati che la secrezione di enzimi, aumentando in questo modo la sensibilità del test. L'esame consiste nel porre nel duodeno un sondino e nell'aspirare il contenuto duodenale per la durata standard di 80 min. I valori considerati normali sono:

**TAB. I. SENSIBILITÀ E SPECIFICITÀ DEI TEST COMUNEMENTE USATI PER LA DIAGNOSI DELLE MALATTIE DEL PANCREAS ESOCRINO RESPONSABILI DI MALASSORBIMENTO**
**(Medie dei valori riportati in letteratura)**

| Test | Sensibilità | Specificità |
|---|---|---|
| SEC-CCK | 90% | 90% |
| Test di Lundh | 75% | 50% |
| Test di Schilling | 85% | 85% |
| PABA-test | 68% | 75% |
| Pancreolauryl-test | 78% | 70% |
| Chimotripsina fecale | 78% | 80% |
| Tripsina sierica | 48% | |
| Isoamilasi sieriche | 47% | |
| Polipeptide pancreatico plasmatico | 90% | |

per la secrezione di bicarbonati: 10-86 mEq/80 min;

per il volume: 110-503 ml/80 min;

per la secrezione dell'amilasi: 440-4038 U./80 min.

La sensibilità varia dal 75 al 95%, mentre la specificità è intorno al 90%, con falsi positivi soprattutto in casi con diabete, cirrosi ed esiti di gastroresezione secondo Billroth II.

*Test di Lundh.* – Questa indagine funzionale prevede sempre il sondaggio duodenale: lo stimolo è in questo caso rappresentato da un pasto standard (Braganza e Rao, 1978). Usualmente viene dosata la concentrazione della tripsina nel succo duodenale, anche se sembra che il contemporaneo dosaggio di amilasi e lipasi possa aumentare la sensibilità delle prove. Questa varia, a seconda delle casistiche, dal 65 al 90%, ma si riduce notevolmente qualora vengano presi in esame pazienti senza steatorrea. La specificità si aggira intorno al 50%; per tale motivo, se si esegue una intubazione duodenale, è sempre preferibile praticare il test di stimolazione diretta SEC-CCK.

*NBT-PABA (bentiromide) test.* – Questa prova (Weizman *et al.*, 1985) è basata sulla necessità di una concentrazione sufficiente di chimotripsina a livello duodenale per liberare l'ac. para-aminobenzoico (PABA) dal complesso non assorbibile benzoil-tirosil-p-aminobenzoato (NBT-PABA o bentiromide). Il PABA libero viene rapidamente assorbito, coniugato a livello epatico, e successivamente escreto nelle urine. La quota urinaria del PABA, dipendendo dalla concentrazione di chimotripsina nel succo duodenale, risulta proporzionale alla funzionalità pancreatica. I valori considerati normali (Wright e Heyworth, 1989) sono un recupero nelle urine di 6 h di più del 60% del PABA ingerito. La dose ottimale della sostanza test è di 500 mg (Wakasugi *et al.*, 1983). La sensibilità varia dal 37 al 100%, con una media intorno al 68%; questa si riduce a meno del 50% nelle forme di insufficienza pancreatica lieve. La specificità non è eccezionale (75%), in quanto l'indagine è influenzata dalla presenza di malattie gastriche (gastrectomia, gastroresezione), intestinali (morbo celiaco, malattia di Crohn), epatiche e renali. Per differenziare le forme di m. intestinale del PABA sono state proposte varianti del test, utilizzanti NBT-PABA e PABA libero marcato con $^{14}C$, o la ripetizione del test in seconda giornata utilizzando solamente PABA libero (Weizman *et al.*, 1985).

*Test di Schilling con doppia marcatura.* – La Vit. $B_{12}$ alimentare si lega, con elevata affinità, alla cosiddetta pro-



Digitized by Google

teina R (FR), presente nella saliva e nel succo gastrico; la Vit. $B_{12}$ legata al fattore R non è assorbibile a livello dell'ileo, se non viene prima trasferita al fattore intrinseco (FI), in presenza di attività proteolitica pancreatica. Il test valuta la differenza dell'assorbimento della [$^{58}$Co]-Vit. $B_{12}$-FR e della [$^{57}$Co]-Vit. $B_{12}$-FI, calcolando il rapporto della escrezione $^{58}$Co/$^{57}$Co (Chen) nelle urine delle 24 h. Tale rapporto, nel normale pari a 1, scende, in caso di insufficienza esocrina pancreatica a valori molto bassi (< 0,20). Il test ha una sensibilità e specificità dell'85%. La sensibilità risulta superiore a quella del NBT-PABA test, soprattutto nei pazienti con insufficienza pancreatica lieve.

*Pancreolauryl test (test alla fluoresceina-dilaureato).* – In queste prove, la fluoresceina dilaureato, un estere scarsamente assorbibile, viene somministrata *per os*: a livello duodenale la fluoresceina, liberata dalle arilesterasi pancreatiche, viene rapidamente assorbita, per essere quindi coniugata a livello epatico e infine escreta con le urine. La sua concentrazione urinaria, calcolata nelle urine di 10 h, esprime quindi l'attività esocrina pancreatica (Ventrucci *et al.*, 1983). Affezioni gastriche, intestinali, epatiche e renali possono influenzare i risultati (Niederau); per tale motivo è stata proposta una variante del test che ne migliora la specificità. Questa consiste in una ripetizione dell'esame dopo tre giorni dal test standard, impiegando fluoresceina libera, e calcolando il rapporto della percentuale di escrezione nelle urine delle 10 h del giorno test (T) con quella del giorno controllo (C) = T/C × 100. Valori > 30 sono da considerarsi normali, mentre quelli < 20 sono da considerarsi patologici; sono dubbi i valori compresi tra 20 e 30.

La sensibilità del test varia dal 46 al 100%, con una media del 78%; essa scende a valori inferiori al 40% nelle forme di insufficienza pancreatica lieve o moderata. La specificità varia dal 46 al 97%, con una media di circa il 70% (Niederau e Grendell, 1985).

*Dosaggio della chimotripsina fecale.* – Il dosaggio della chimotripsina fecale si correla con il grado della funzionalità pancreatica (Niederau *et al.*, 1980). Il test presenta una sensibilità dell'85% nelle forme di insufficienza pancreatica grave e solo del 49% nelle forme di insufficienza lieve; la specificità si aggira intorno all'80%.

*Test della secrezione parotidea.* – Nei pazienti con insufficienza esocrina pancreatica, la stimolazione con pilocarpina determina una secrezione di bicarbonati e di amilasi e un volume salivare inferiori rispetto ai normali. Le scarse sensibilità e specificità del test ne riducono notevolmente l'importanza clinica.

*Misurazione della immunoreattività sierica tripsinosimile e della concentrazione dell'isoamilasi.* – In varie malattie pancreatiche la concentrazione sierica della tripsina e dell'isoamilasi è inferiore rispetto ai controlli. La sensibilità del dosaggio della immunoreattività tripsinosimile è piuttosto bassa, variando dal 33 al 65%, con una media del 48%. Anche per il dosaggio delle isoamilasi la sensibilità è bassa, variando dal 13 al 70% con una media del 47%.

*Dosaggio del polipeptide pancreatico (PP).* – Il dosaggio del PP presenta una buona sensibilità, con valori intorno al 90% in pazienti con insufficienza pancreatica grave; questa si riduce a meno del 10% nelle forme lievi della malattia.

*Test del consumo degli aminoacidi.* – Questo test è stato introdotto in clinica solo recentemente e consiste nel dosaggio degli aminoacidi plasmatici prima e dopo stimolazione della secrezione pancreatica con SEC e CCK (Domschke *et al.*, 1986). Un sensibile decremento degli aminoacidi è indice di una normale attività pancreatica, in quanto la ghiandola normofunzionante utilizza gli stessi per la «costruzione» degli enzimi. La sensibilità del test è del 91%, e si riduce al 67% nelle forme lievi.

In conclusione il test di stimolazione diretta (SEC-CCK) è quello che presenta la maggiore sensibilità e specificità; queste si mantengono soddisfacenti anche nelle forme di insufficienza pancreatica lieve. I test indiretti più comunemente impiegati presentano una buona sensibilità e specificità solo nelle forme gravi di insufficienza pancreatica, scendendo, nelle forme di insufficienza lieve, ad una sensibilità inferiore al 50%, con l'eccezione, sembra, del test di Schilling con doppia marcatura (Chen *et al.*, 1989), e del test del consumo degli aminoacidi (Domschke *et al.*, 1986).

*Test per il malassorbimento dei carboidrati*

*Breath test all'idrogeno.* – In caso di maldigestione o m. dei carboidrati, un variabile ammontare di zuccheri sfugge al piccolo intestino e giunge al colon, dove viene metabolizzato da parte della flora batterica, ivi normalmente residente. Uno dei prodotti di tale metabolismo è l'idrogeno, un gas che diffonde rapidamente nel sangue e da qui, attraverso i polmoni, nell'aria espirata, dove può essere misurato. Un aumento del contenuto di $H_2$ nell'aria espirata è, quindi, indice di m. dei carboidrati. Attualmente sono disponibili apparecchi anche portatili per la determinazione della concentrazione dell'$H_2$ (espressa in parti per milione).

Un tracciato tipico, ottenuto con misurazioni ogni 15 min e dopo la somministrazione di un substrato di prova (lattulosio, lattoso, glicoso), è caratterizzato da 2 picchi di $H_2$: il primo sembra legato al metabolismo dello zucchero da parte della flora buccale, in quanto viene eliminato dopo sciacqui con clorexidrina, mentre il secondo, che compare normalmente dopo 90-120 min, è legato all'arrivo del substrato a livello del cieco, dove esso viene sottoposto al metabolismo da parte dell'abbondante flora batterica. Il tempo d'arrivo del substrato a livello del cieco, indicato dal secondo picco di $H_2$, è funzione della velocità di transito.

Il *breath test* all'$H_2$ rappresenta la metodica più sensibile per lo studio del deficit di lattasi, congenito o acquisito. Usualmente viene impiegata una dose orale di 1 g/kg di lattoso e il risultato viene considerato patologico nel caso in cui si osservi un incremento di oltre 20 ppm di $H_2$ nell'aria espirata rispetto al basale.

*Test di assorbimento del D-xiloso.* – Il D-xiloso è uno zucchero a 5 atomi di carbonio che viene assorbito a livello dell'intestino tenue, ma, a differenza del glicoso e del galattoso, non è metabolizzato dai tessuti, ed è in gran parte escreto immodificato nelle urine. I valori normali di escrezione urinaria, dopo un carico di 25 g, sono > 5 g nelle urine delle 5 h (Wright e Heyworth, 1989). Una superiore accuratezza diagnostica sarebbe ottenuta con il dosaggio sierico dello xiloso dopo 1-2 h dalla somministrazione (v.n. > 20 mg/dl). Un ulteriore miglioramento della sensibilità può essere ottenuto rapportando i valori sierici dello xiloso con la superficie corporea, cosa che permette di ottenere una migliore discriminazione tra pazienti con malassorbimento e normali (Bodè e Gudmand-Hoyer, 1987).

Attualmente, sembra che l'utilità del test sia soprattutto confinata alla diagnostica differenziale tra malattie pancreatiche in cui l'assorbimento dello zucchero è normale e malattie intestinali nelle quali esso è invece compromesso.

*Test di tolleranza al lattoso.* – Dopo una somministrazione orale di lattoso (50 g), vengono eseguiti prelievi ematici a 1 e 2 h di distanza: incrementi della glicemia di oltre 20 mg/dl indicano una normale attività enzimatica. Questo test è stato comunque sostituito da altri, quali il *breath test* al lattoso (Wright e Heyworth, 1989). Recentemente, è stato messo a punto un semplice test per lo studio del deficit di lattasi, consistente nel dosaggio del galattoso, del rapporto lattoso/galattoso e del rapporto galattoso/creati-



Digitized by Google

nina nelle urine. Il rapporto galattoso/creatinina sembra il miglior parametro per la discriminazione tra soggetti normali e soggetti con deficit di lattasi, presentando anche una ottima correlazione con il *breath test* dopo lattoso (Grant *et al.*, 1989).

*Intubazione ileale.* – Questa indagine, proposta solo di recente (Highuchi *et al.*, 1986), consiste in una diretta quantificazione dei carboidrati non assorbiti che giungono a livello del colon. Ulteriori studi sono peraltro necessari per definirne la reale utilità clinica.

*Test al cellobioso/mannitolo.* – Questo esame viene eseguito per lo studio della permeabilità della mucosa intestinale. È stato dimostrato che, nel morbo celiaco, viene assorbito, rispetto ai soggetti normali, più cellobioso e meno mannitolo. In uno studio condotto su 1010 pazienti con sospetta malattia celiaca il test ha presentato una sensibilità del 96% e una specificità del 70% (Juby *et al.*, 1989).

*Studio della sovraccrescita batterica intestinale*

*Breath test all'idrogeno.* – Le caratteristiche essenziali di un substrato da impiegare nello studio della sovraccrescita batterica del piccolo intestino sono:

massimo contatto con la flora batterica intestinale;

minimo contatto con la flora batterica del colon (la sostanza test deve essere completamente assorbita a livello del tenue);

nessuna produzione di gas come risultato del metabolismo tessutale.

Uno dei substrati ideali è il glicoso: in corso di sovraccrescita batterica si osserva infatti un aumento della produzione di $H_2$ dopo somministrazione di glicoso (80 g) (Corazza *et al.*, 1987). Meno utile sembra il lattuloso, il quale, come è noto, non viene assorbito a livello del tenue e può giungere in contatto con la flora del colon; comunque la comparsa di un picco precoce sarebbe indicativa di una sovraccrescita batterica intestinale (Sleisenger). È stato poi osservato che, a digiuno, i livelli di $H_2$ nell'aria espirata sono significativamente maggiori rispetto ai normali in pazienti con sovraccrescita batterica intestinale (Corazza *et al.*, 1987) e con malattia celiaca (Perman *et al.*, 1984; Kerlin *et al.*, 1984).

*Breath test con $CO_2$ isotopica.* – Questo si basa sulla somministrazione ai soggetti in esame di substrati contenenti un isotopo radioattivo del carbonio ($^{14}C$ o $^{13}C$), il cui metabolismo può portare alla formazione di $CO_2$ isotopica, misurabile nell'aria espirata. Il *breath test* con sali biliari marcati ($^{14}C$-colilglicina) è stato il primo esame messo a punto per la determinazione della sovraccrescita batterica. I pazienti con questa affezione presentano valori abnormemente elevati di escrezione della $CO_2$ marcata, dovuta alla deconiugazione batterica nel piccolo intestino. L'importanza dell'esame è peraltro ridimensionata dai numerosi falsi positivi, legati soprattutto a lesioni intestinali con secondario m. dei sali biliari e deconiugazione da parte della flora batterica del colon (specificità del 60%) (Ferguson *et al.*, 1986).

Il *breath test* con xiloso marcato ($^{14}C$) è considerato attualmente il metodo più sensibile e specifico per lo studio della sovraccrescita batterica intestinale, con valori rispettivamente del 95 e del 100% (King e Thoskes, 1986; Corazza *et al.*, 1990). In questi pazienti, la concentrazione nell'aria espirata della $CO_2$ marcata risulta sensibilmente superiore rispetto ai controlli, in relazione al catabolismo dello xiloso da parte della flora batterica incrementata.

*Coltura quantitativa del contenuto del piccolo intestino.* – La coltura viene eseguita attraverso il sondaggio duodenale. In soggetti normali si ottengono meno di $10^6$ batteri/ml, di solito streptococchi o stafilococchi, mentre in presenza di una sovraccrescita batterica si ottengono oltre $10^8$ batteri/ml, di solito coliformi ed anaerobi (Wright e Heyworth, 1989).

*Test per il malassorbimento dei sali biliari*

Per questo esame viene impiegato ac. taurocolico marcato con $^{75}$Se. I pazienti che dopo 3 giorni presentano una radioattività residua, misurata mediante gamma camera, inferiore al 35% sono considerati anormali (Popovic *et al.*, 1987), per la presenza di un'aumentata perdita fecale della molecola indicatrice, legata a m. dei sali biliari.

*Endoscopia digestiva*

La panendoscopia superiore viene impiegata soprattutto allo scopo di eseguire biopsie mirate del digiuno, che possono permettere la diagnosi di numerose affezioni della mucosa intestinale direttamente o indirettamente cause di m. (ad es. morbo celiaco, malattia di Crohn, malattia di Whipple, giardiasi, abetalipoproteinemia). Oltre che per una valutazione istologica, le biopsie possono essere impiegate per lo studio funzionale dell'attività enzimatica (disaccaridasi). È stato recentemente osservato che nei pazienti con morbo celiaco sono presenti peculiari alterazioni endoscopiche caratterizzate da valvole conniventi con bordi «seghettati», e mucosa digiunale con aspetto a «carta geografica» (Jabbari *et al.*, 1988).

V. anche: ENDOSCOPIA DIGESTIVA*.

**Malassorbimento in corso di AIDS**

Particolare interesse ha assunto negli ultimi anni la sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS), nella quale vari sintomi gastrointestinali ed epatobiliari sono di frequente riscontro. I sintomi gastrointestinali più frequenti sono la diarrea, il m. e il calo ponderale a questi associato. Né la patogenesi della diarrea né quella del m. sono state fino a ora chiarite: istologicamente è di solito visibile una atrofia di vario grado dei villi intestinali, associata a slargamento delle cripte e a un variabile infiltrato cellulare.

L'agente etiologico più comunemente identificato, è il *Cryptosporidium*, un protozoo responsabile, in soggetti normali, di diarree benigne, autolimitantisi. Nei pazienti con AIDS la diarrea è, invece, massiva (fino a 17 litri al giorno), e spesso associata a franco m. La diagnosi è basata sul riscontro colturale, ed è attualmente semplificata dalla messa a punto di un terreno che facilita notevolmente la crescita del protozoo *in vitro* (Current e Haynes, 1984) (v. CRIPTOSPORIDIOSI*).

Un quadro clinico analogo è quello indotto dalla *Isospora belli*, un protozoo correlato al *Cryptosporidium*; più rare sono le infezioni sostenute da un altro protozoo, la *Microsporidia*, diagnosticabile mediante microscopia elettronica.

Il *Mycobacterium avium intracellulare* è un patogeno intestinale che è possibile rilevare esclusivamente nei pazienti con AIDS; questo è responsabile di un quadro simile alla malattia di Whipple: profusa diarrea e m., associati ad un infiltrato di macrofagi nella lamina propria carichi di micobatteri, che differiscono dai bacilli di Whipple per la loro acidoresistenza.

Un particolare quadro clinico è quello della cosiddetta enteropatia idiopatica da AIDS, caratterizzato da diarrea cronica, specie notturna, m. e calo ponderale; nessun agente infettivo è documentabile. Istologicamente è presente una atrofia dei villi intestinali, con iperplasia delle cripte e infiltrato linfocitario, ma, come abbiamo visto, questi aspetti istologici non sono specifici, in quanto si riscontrano comu-



Digitized by Google

nemente nell'intestino di pazienti con AIDS. Non è chiaro se l'enteropatia idiopatica possa essere considerata una entità a se stante, o una semplice forma di diarrea infettiva nella quale, per diversi motivi, non è possibile identificare l'agente etiologico.

Altre cause, più rare, di diarrea e sindrome da m. sono rappresentate dalle neoplasie, che con aumentata frequenza possono insorgere in corso di AIDS. Importante a questo proposito il linfoma intestinale, quasi sempre B-cellulare (Ioachim *et al.*, 1985), il quale può interessare praticamente tutti i siti del tratto gastrointestinale, mentre per il sarcoma di Kaposi, la cui incidenza è particolarmente elevata in questo tipo di pazienti (Friedman *et al.*, 1985), non sembra invece associato a una sindrome da m.

**Bibliografia**


Benini L., Caliari S., Guidi G. C. *et al.*, *Gut*, 1989, **30**, 1344-1347.
Bodè S., Gudmand-Hoyer, *Scand. J. Gastroenterol.*, 1987, **22**, 1217.
Braganza J. M., Rao J. J., *Br. Med. J.*, 1978, **2**, 392-394.
Chen W. L., Morishita R., Eguchi T. *et al.*, *Gastroenterology*, 1989, **96**, 1337-1345.
Corazza G. R. Strocchi A., Gasbarrini G., *Gastroenterology*, 1987, **93**, 53.
Corazza G. R. *et al.*, *Gastroenterology*, 1990, **98**, 302.
Current W. L., Haynes T. B., *Science*, 1984, **224**, 603.
Domschke S., Heptner G., Kolb S. *et al.*, *Gastroenterology*, 1986, **90**, 1031-1038.
Drummey G. D., Benson J. A., Jones C. M., *N. Engl. J. Med.*, 1961, **264**, 85-87.
Ferguson J., Walker K., Thomson A. B., *J. Clin. Gastroenterol.*, 1986, **8**, 258.
Friedman S., Wright T., Altman D., *Gastroenterology*, 1985, **89**, 102.
Grant J. D., Bezerra J. A. *et al.*, *Gastroenterology*, 1989, **97**, 895.
Henry R. J., *Harper and Row*, 1964, New York, p. 881.
Heptner G., Domsche S., Domschke W., *Gastroenterology*, 1989, **97**, 147.
Highuchi S., Fukushi G. *et al.*, *Dig. Dis. Sci.*, 1986, **31**, 369.
Ioachim H. L., Cooper M. C., Hellman G. C., *Cancer*, 1985, **56**, 2831.
Jabbari M., Wild G. *et al.*, *Gastroenterology*, 1988, **95**, 1518.
Juby L. D., Rothwell J., Axon A. T. R., *Gut*, 1989, **30**, 476.
Kerlin P., Wong L. *et al.*, *Gastroenterology*, 1984, **87**, 578.
King C. E., Thoskes P. P., *Gastroenterology*, 1986, **91**, 1447.
Niederau C., Strueder E., Thienaus R. Z., *Allg. Med.*, 1980, **56**, 1238.
Niederau C., Grendell J. H., *Gastroenterology*, 1985, **88**, 1973.
Perman J. A., Modler S., Barr R. G., *Gastroenterology*, 1984, **87**, 1358.
Peterson H., Myren J., *Scand. J. Gastroenterol.*, 1975, **10**, 851.
Popovic O. S., Kostic K. M. *et al.*, *Gastroenterology*, 1987, **92**, 1851.
Schneider M. U., Demling L., Jones S. A. *et al.*, *Dig. Dis. Sci.*, 1987, **32**, 494.
Sleisenger M. H., in *Clinics in Gastroenterology*, 1983, Saunders, London, p. 323.
Van de Kamer J. H. ed., *Standard Methods of Clinical Chemistry*, 1958, Academic Press, New York, vol. 2, p. 34.
Ventrucci M., Gullo L., Daniele C. *et al.*, *Am. J. Gastroenterol.*, 1983, **73**, 860.
Wakasugi H., Funakoshi T., Ibayashi H., *Digestion*, 1983, **26**. 1.
Weizman Z., Forstner G. G., Gaskin J. *et al.*, *Gastroenterology*, 1985, **88**, 1973.
Wormsley K. G., *Scand. J. Gastroenterol.*, 1969, **4**, 623.
Wright T. L., Heyworth M. F., in Wickland E. ed., *Gastrointestinal Disease*, 1989, Saunders, Philadelphia, p. 263.


ANTONIO MORELLI E LUCA SANTUCCI

## MALATTIA INFIAMMATORIA PELVICA

F. *maladie inflammatoire pelvienne.* - T. *pelvic inflammatory disease; PID.* - T. *entzündliche Beckenerkrankung.* - S. *enfermedad inflamatoria de la pelvi.*

SOMMARIO



### Generalità e definizioni

Si definisce *malattia infiammatoria pelvica* [PID: *Pelvic Inflammatory Disease*] una entità clinica caratterizzata da un processo flogistico di natura infettiva che coinvolge l'endometrio (endometrite), la tuba (salpingite) e può estendersi all'ovaio (salpingo-ovarite o annessite), al parametrio (parametrite), al peritoneo pelvico (pelviperitonite) (Hager *et al.*, 1983; Pescetto *et al.*, 1989).

Poiché la salpingite rappresenta l'elemento caratteristico di questa malattia, sotto il profilo clinico e anatomopatologico, il termine salpingite viene spesso adoperato come sinonimo di PID sebbene sia possibile che alcune pazienti affette da PID, con interessamento dei legamenti larghi, non manifestino, all'esame laparoscopico, segni di salpingite (Eschenbach, 1986; Surico, 1988).

La PID viene attualmente ritenuta la più grave infezione ginecologica nelle giovani donne ed uno dei più importanti problemi della sanità pubblica (Nicoletti e Tempera, 1988; Buchan e Vessey, 1989).

Negli Stati Uniti le pazienti affette da PID in fase acuta sottoposte, ogni anno, a trattamenti terapeutici sono circa un milione con una spesa annua pari a 3 miliardi di dollari (Washington e Arno, 1986).

Il danno tubarico, causato dalla malattia, è responsabile del 30-40% dei casi di sterilità primitiva e del 40-50% dei casi di gravidanza ectopica (Weström, 1980; Eschenbach, 1986).

### Classificazione

La PID viene distinta in primitiva e secondaria, secondo la classificazione proposta da Weström nel 1980 (tab. 1).

La *PID primitiva* è il risultato di una infezione ascendente ehe origina dalla flora microbica del tratto genitale inferiore e che successivamente si estende ai distretti anatomici superiori.

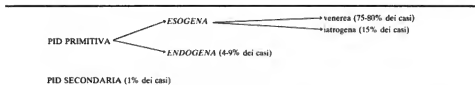
La PID primitiva esogena venerea (75-80% dei casi) è causata da microrganismi trasmessi attraverso il rapporto sessuale.

Nella PID primitiva esogena iatrogena (15% dei casi) gli agenti patogeni raggiungono la cavità uterina e i distretti anatomici superiori per diffusione da una infezione del tratto genitale inferiore, in occasione di manovre strumentali ehe interessano la *portio* (isterosalpingografia, isteroscopia, interruzione volontaria della gravidanza, etc.) o dell'inserzione di uno IUD (*Intra Uterine Device*).

La PID endogena (4-9% dei casi) è causata dai microrganismi della flora batterica residente, vaginale ed anoperineale.

La *PID secondaria*, che rappresenta circa l'1% di tutti i casi di PID, si instaura in seguito alla diffusione alla pelvi per via ematica, per via linfatica o per contiguità, di microrganismi provenienti da focolai infiammatori extragenitali (appendiciti, pieliti, cistiti, coliti, etc.).

Il decorso clinico della PID è di tipo acuto, sebbene sia possibile una evoluzione insidiosa, subacuta della malattia

**TAB. I. MALATTIA INFIAMMATORIA PELVICA (PID): CLASSIFICAZIONE SECONDO WESTRÖM**
(Da Maruotti e Reverberi, 1990)

che, a volte, si dimostra completamente asintomatica: *silent PID* (Rosenfeld *et al.*, 1983).

La PID secondaria tende ad assumere frequentemente un decorso cronicizzante con evoluzione pluriaderenziale (Surico, 1988).

**Epidemiologia**

La frequenza della PID ha subito, nei paesi più industrializzati, un aumento drammatico a partire dal 1960. È stato calcolato che l'1-2% delle donne sessualmente attive contrae ogni anno la PID. L'incidenza annuale, in Europa, è stata stimata pari a 10-15 casi per 1000 donne di età compresa fra 15 e 45 anni (Henry-Suchet, 1984).

Il numero delle pazienti ricoverate in Gran Bretagna nel periodo 1975-1985 è aumentato del 28% (Buchan e Vessey, 1989).

La PID, nella maggior parte dei casi (75-80%, tab. I), assume le caratteristiche di una malattia a trasmissione sessuale (*sexually transmitted disease*, STD) che incide esclusivamente sulla popolazione di donne sessualmente attive (Maruotti e Reverberi, 1990).

**Fattori di rischio**

*Età ed abitudini sessuali*

Il notevole aumento dell'incidenza della malattia che si è verificato negli ultimi anni ha interessato, quasi esclusivamente, le giovani donne di età compresa fra 15 e 25 anni.

In Gran Bretagna nel periodo 1975-1985 il numero delle pazienti ricoverate, di età compresa fra 20 e 24 anni, è aumentato del 50% (Buchan e Vessey, 1989). L'aumento del rischio nelle giovani donne sembra legato alle abitudini sessuali; le probabilità di acquisire un agente patogeno, infatti, sono direttamente proporzionali alla frequenza dei rapporti sessuali con partner diversi: le donne con più partner presentano un rischio di contrarre la PID 4,6 volte maggiore rispetto alle donne con un solo partner (Danesino e Guaschino, 1988).

I rapporti sessuali durante il flusso mestruale (Keith *et al.*, 1984) ed i rapporti sessuali orali (Teisala, 1988) debbono essere considerati ulteriori fattori in grado di aumentare il rischio di contrarre la PID.

*Fase del ciclo mestruale*

Si ritiene che la presenza del sangue e l'assenza del muco cervicale, durante il flusso mestruale, possano facilitare la colonizzazione del tratto genitale superiore (Shafer e Sweet, 1989).

*Metodiche contraccettive*

L'uso di un dispositivo intrauterino (IUD) aumenta il rischio di contrarre la PID (Wilkins *et al.*, 1989; Williams *et al.*, 1990). L'impiego di mezzi anticoncezionali di barriera (condom, diaframma) riduce il rischio di contrarre la malattia (Porcelli, 1988). L'assunzione di contraccettivi orali (estroprogestinici) riduce il rischio dell'insorgenza della PID causata da *Chlamydia trachomatis* (Wolner-Hanssen *et al.*, 1990a). Si ritiene che l'azione protettiva degli anticoncezionali orali si esplichi attraverso una diminuzione della capacità della *Chlamydia* di aderire alle cellule endometriali (Wolner-Hanssen *et al.*, 1990a). L'annessiectomia e la legatura delle tube (Weström e Mardh, 1984) vengono considerati fattori di protezione nei confronti della PID.

*Manovre strumentali invasive (fattori iatrogeni)*

Le procedure che comportano la dilatazione del canale cervicale e/o l'introduzione di strumenti nella cavità uterina (*curettage*, biopsia dell'endometrio, applicazione di IUD, isterosalpingografia, insufflazione utero-tubarica, isteroscopia) rappresentano fattori di rischio iatrogeni poiché sono in grado di facilitare la diffusione ascendente di agenti patogeni (Pellegrini *et al.*, 1987).

Le manovre di *pick-up* ecoguidato dell'ovocita, nella fecondazione assistita, eseguite per via transvaginale, comportano, nel 3% dei casi, il rischio dell'insorgenza della PID (Howe *et al.*, 1988).

*Interruzione volontaria della gravidanza (IVG)*

Una percentuale variabile dall'1 al 12% delle donne sottoposte ad IVG viene colpita dalla PID (Campagnoli *et al.*, 1988; Larsson *et al.*, 1989).

*Lavande vaginali*

L'abitudine di eseguire regolarmente delle lavande vaginali aumenta il rischio di contrarre la malattia (Wolner-Hanssen *et al.*, 1990b). Si ritiene che la lavanda possa alterare l'equilibrio della popolazione microbica vaginale favorendo lo sviluppo o la penetrazione nella cavità uterina degli agenti etiologici della PID.

*Fumo di sigarette*

Le fumatrici presentano un rischio doppio, rispetto alle non fumatrici, di sviluppare la malattia (Marchbanks *et al.*, 1990). Le cause di questo fenomeno sarebbero riconducibili alla immunodepressione (Phillips *et al.*, 1985) ed alle alterazioni del muco cervicale (Hellberg *et al.*, 1988) indotte dal fumo.

*PID pregressa*

La probabilità di contrarre nuovamente la malattia risulta doppia nelle donne colpite dalla PID rispetto ai controlli (Eschenbach, 1986).

**Etiologia**

*Generalità*

Il mantenimento del fisiologico equilibrio fra le popolazioni batteriche dell'ambiente vaginale rappresenta uno dei meccanismi di protezione dalle infezioni dell'epitelio vaginale e del tratto genitale superiore poiché si oppone alla prolife-





Digitized by Google

razione dei germi patogeni esogeni e dei germi endogeni potenzialmente patogeni.

La flora batterica vaginale residente svolge un ruolo di fondamentale importanza nella etiopatogenesi della PID primitiva (Bartlett, 1990); l'insorgenza dell'infezione pelvica, infatti, riconosce quali tappe preliminari un'alterazione delle popolazioni microbiche residenti e, quindi, lo sviluppo di un'infezione del tratto genitale inferiore (Nicoletti e Tempera, 1988).

L'etiologia della PID appare soggetta ad un continuo rimaneggiamento a causa delle variazioni dell'ecologia batterica indotte dall'uso degli antibiotici, della evoluzione delle abitudini sessuali, dell'impiego delle diverse metodiche anticoncezionali, del crescente ricorso alla IVG e alle manovre strumentali che interessano il tratto genitale (Gioannini, 1988).

Nella tab. II sono stati riportati alcuni dei microrganismi isolati in pazienti affette da PID.

Secondo la teoria etiopatogenetica classica, rigidamente monomicrobica, un unico agente patogeno era ritenuto responsabile dello sviluppo della malattia. Si riteneva, inoltre, che l'infezione da gonococco determinasse la successiva colonizzazione delle strutture anatomiche da parte di agenti patogeni a virulenza attenuata.

Attualmente si ritiene, al contrario, che la PID riconosca una etiologia polimicrobica; in molti casi, infatti, è possibile isolare, nella fase iniziale della malattia, due o più agenti patogeni (Ledger, 1988; Crombleholme *et al.*, 1989; Heinonen *et al.*, 1989; Walters e Gibbs, 1990; Gall e Constantine, 1990).

*Neisseria gonorrhoeae*

*Neisseria gonorrhoeae* è stata isolata dal materiale prelevato dalle tube o dalla cavità peritoneale nel 5-40% delle donne affette da PID (Sweet, 1987).

Sulla base dell'isolamento, dall'ambiente tubarico o dalla cavità peritoneale, di altri microrganismi (*Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, numerose specie batteriche aerobie ed anaerobie della flora vaginale residente) oltre al gonococco, è stata dimostrata l'etiologia polimicrobica di molti casi di PID che in passato sarebbero stati classificati ad etiologia gonococcica (Sweet, 1987).

*Chlamydia trachomatis*

*Chlamydia trachomatis* è stata isolata dal tratto genitale superiore nel 10-43% delle donne affette da PID (Karchmer, 1989).

**TAB. II. ALCUNI MICRORGANISMI ISOLATI DA PAZIENTI AFFETTE DA PID**

(Modificata da Ledger, 1988)

| I. Grampositivi | II. Gramnegativi |
|---|---|
| A. AEROBI | A. AEROBI |
| Bacilli | Bacilli |
| *Bacillus* sp. | *Acinetobacter* sp. |
| *Corynebacterium* sp. | *Citrobacter diversus* |
| *Difteroidi* | *Citrobacter* sp. |
| Cocchi | *Escherichia coli* |
| *Staphylococcus aureus*, coagulasi-negativo | *Enterobacter aerogenes* |
| *Staphylococcus aureus*, coagulasi-positivo | *Enterobacter cloacae* |
| Streptococco gruppo A β-emolitico | *Gardnerella vaginalis* |
| Streptococco gruppo B β-emolitico | *Haemophilus influenzae* |
| Streptococco gruppo D β-emolitico | *Haemophilus* sp. |
| Altri streptococchi non classificati | *Klebsiella oxytoca* |
| Streptococchi microaerofili | *Klebsiella pneumoniae* |
| | *Morganella morganii* |
| B. ANAEROBI | *Proteus mirabilis* |
| BACILLI | *Providencia vulgaris* |
| *Bifidobacterium minimum* | *Providencia stuartii* |
| *Clostridium perfringens* | *Pseudomonas aeruginosa* |
| *Clostridium* sp. | Cocchi |
| *Eubacterium* sp. | *Neisseria gonorrhoeae* |
| *Lactobacillus fermentum* | *Neisseria* sp. |
| *Lactobacillus* sp. | B. ANAEROBI |
| *Propionibacterium granulosum* | Bacilli |
| Cocchi | *Bacteroides bivius* |
| *Peptococcus* sp. | *Bacteroides disiens* |
| *Peptostreptococcus anaerobius* | *Bacteroides distasonis* |
| *Peptostreptococcus asaccharolyticus* | *Bacteroides fragilis* |
| *Peptostreptococcus prevotii* | *Bacteroides melaninogenicus* subspecie *intermedius* |
| *Peptostreptococcus tetradius* | *Bacteroides melaninogenicus* |
| *Peptostreptococcus* sp. | *Bacteroides ovatus* |
| C. ALTRI | *Bacteroides thetaiotaomicron* |
| *Chlamydia trachomatis* | *Bacteroides vulgatus* |
| *Mycoplasma hominis* | *Bacteroides* sp. |
| *Ureaplasma urealyticum* | *Fusobacterium gonadiaformans* |
| | *Fusobacterium necrophorum* |
| | Cocchi |
| | *Veillonella parvula* |



Digitized by Google

Nelle casistiche relative alla popolazione degli Stati Uniti l'etiologia gonococcica risulta prevalente mentre nelle casistiche svedesi prevale l'etiologia da *Chlamydia*.

La forma più insidiosa di PID è quella da *Chlamydia* a causa del suo decorso clinico subdolo caratterizzato dalla sintomatologia sfumata o addirittura assente (Aimone *et al.*, 1988).

L'infezione da *Chlamydia*, pertanto, causa gravi lesioni tubariche che risultano evidenti soltanto quando la paziente, divenuta sterile, viene sottoposta ad indagini diagnostiche strumentali (Giannola e Allegra, 1988).

Nei due terzi delle donne sterili a causa di un danno tubarico con anamnesi negativa per PID è possibile dimostrare una sieropositività per *Chlamydia* (Puolakkainen *et al.*, 1986).

Le lesioni causate dalla infezione da *Chlamydia* possono interferire con i meccanismi di nidamento e di sviluppo dell'ovocita fecondato (Maruotti e Reverberi, 1990). Ciò determina, nelle donne che hanno sofferto di PID, un aumento del rischio relativo all'insorgenza di una gravidanza extrauterina (De Placido *et al.*, 1988; Miettinen *et al.*, 1990) o di una sindrome abortiva (Fedele *et al.*, 1988; Spence, 1989).

*Micoplasmi*

*Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum* sono stati isolati dal peritoneo e dalle tube nel 4-17% e nel 2-20% dei casi di PID, rispettivamente (Henry-Suchet *et al.*, 1980; Eschenbach, 1986; Gioannini, 1988; Taylor-Robinson, 1990).

*Batteri aerobi e anaerobi*

Nelle casistiche più recenti l'isolamento simultaneo dalle tube di diverse specie batteriche aerobie ed anaerobie (tab. II) è stato ottenuto nel 95% dei casi di PID (Bartlett, 1990). Su questi dati è basata la teoria, attualmente condivisa dalla maggior parte degli AA., della etiologia polimicrobica della PID.

Negli ultimi anni è stata segnalata la responsabilità, nell'etiologia della PID, di *Mobiluncus curtisii* e *Mobiluncus mulieris* (Paavonen *et al.*, 1987), schizomiceti anaerobi coinvolti nell'etiopatogenesi della vaginosi batterica (v. VAGINITI) (Larsson *et al.*, 1989).

*Virus*

Il ruolo dei virus nelle infezioni pelviche deve essere ancora chiarito. È stata segnalata la responsabilità del *Cytomegalovirus*, del virus dell'*Herpes simplex* e dei virus *Coxsackie B*, ed *Echo 6* nell'etiologia di alcuni casi di PID.

**Patogenesi**

Le vaginiti, le cerviciti, l'uso dei dispositivi intrauterini e le modificazioni fisiologiche che si verificano durante il ciclo mestruale sono stati individuati quali fattori coinvolti nello sviluppo della malattia (Eschenbach, 1986; Weström, 1987; Shafer e Sweet, 1989).

L'insorgenza della PID è spesso preceduta da un episodio di cervicite, sebbene non siano note le cause responsabili del passaggio degli agenti patogeni nei distretti anatomici superiori (Holmes, 1985; Keith *et al.*, 1986; Keith *et al.*, 1989).

La diffusione dell'infezione dal tratto genitale inferiore all'endometrio, alle tube, all'ovaio ed al peritoneo viene ritenuta possibile sulla base di 4 modelli patogenetici.

a) *Il Trichomonas vaginalis quale vettore degli agenti etiologici della PID*. Molti microrganismi possiedono la capacità di aderire strettamente alla superficie del *Trichomonas vaginalis* che, grazie alla sua motilità, è in grado di raggiungere le tube e la cavità peritoneale (Keith *et al.*, 1986).

b) *Lo spermatozoo quale vettore degli agenti etiologici della PID*. L'insorgenza della PID potrebbe essere legata alla adesione degli agenti patogeni agli spermatozoi: gli spermatozoi di maschi portatori di batteriospermia asintomatica (Toth e Lesser, 1981) o gli spermatozoi colonizzati da costituenti della flora vaginale, potrebbero trasferire gli agenti etiologici della malattia fino al tratto genitale superiore e anche alla cavità peritoneale (Gioannini, 1988).

c) *Le cellule migranti quali vettori degli agenti etiologici della PID*. Le cellule migranti coinvolte nei processi di reazione infiammatoria potrebbero veicolare, con l'intervento di fenomeni di adesione, gli agenti etiologici della PID (Shafer e Sweet, 1989).

d) *Trasporto passivo*: gli agenti patogeni potrebbero raggiungere le tube e la cavità peritoneale grazie all'intervento di meccanismi di trasporto passivo, agevolati dalle contrazioni miometriali postcoitali, dalle escursioni diaframmatiche e dalla pressione negativa intraperitoneale (Keith *et al.*, 1986; Keith *et al.*, 1989).

*Azione sinergica di alcune specie batteriche nella patogenesi della PID*

L'inoculazione nel topo di ceppi di *Neisseria gonorrhoeae* e di ceppi di *Bacteroides* o di *Peptostreptococcus* non capsulati, e quindi non virulenti, induce la comparsa di ceppi capsulati e virulenti (Brook *et al.*, 1984; Brook, 1986). La presenza della capsula, oltre a proteggere i germi dalla fagocitosi, è in grado di inibire la fagocitosi delle altre specie batteriche contemporaneamente presenti nei focolai di infezione (Simon *et al.*, 1982).

La partecipazione degli anaerobi della flora vaginale residente al processo etiopatogenetico della infezione pelvica potrebbe essere interpretata, sulla base di queste osservazioni, quale conseguenza dell'esposizione agli agenti patogeni sessualmente trasmessi (Brook, 1986).

*Ruolo dell'interferone-γ nella patogenesi della PID*

Nei soggetti affetti da PID è possibile dimostrare un aumento della sintesi di interferone-γ (Grifo *et al.*, 1989).

La liberazione di interferone-γ a livello delle tube e delle altre strutture anatomiche colpite dalla PID determinerebbe l'espressione degli antigeni Ia sulle membrane delle cellule epiteliali e dei macrofagi (Trinchieri e Perussia, 1985; Unanue e Allen, 1987) e l'attivazione di un meccanismo autoimmune con distruzione delle cellule Ia-positive (Grifo *et al.*, 1989).

Si ritiene che il danno tubarico permanente legato alla PID e la sterilità ad esso conseguente siano dovuti, in larga parte, all'intervento di meccanismi immunologici.

**Anatomia patologica**

I reperti anatomopatologici della PID sono rappresentati, a seconda dell'andamento e della gravità della malattia, da un'associazione dei seguenti quadri: *a*) endometrite acuta; *b*) endometrite cronica; *c*) miometrite; *d*) perimetrite; *e*) salpingite acuta; *f*) salpingite cronica.

La salpingite cronica, inoltre, può assumere gli aspetti della salpingite follicolare, del piosalpinge (fig. 1), dell'idrosalpinge (fig. 2) o dell'ascesso tubo-ovarico (fig. 3).

Il coinvolgimento del perimetrio comporta la formazione di aderenze cicatriziali che interessano gli organi circostanti (figg. 4-7).



Digitized by Google

Fig. 1. Ecotomografia. Sonda transaddominale (3,5 MHz). Scansione trasversale. Piosalpinge: la tuba appare aumentata di volume e deformata "a salsicciotto" dalla raccolta purulenta legata alla obliterazione degli osti addominale ed uterino. (*Per la cortesia del Dr. C. Giorlandino*). (*Da Maruotti e Reverberi, 1990*).

Fig. 2. Ecotomografia. Sonda transaddominale (3,5 MHz). Scansione trasversale. Idrosalpinge: la tuba appare distesa e avvolta su se stessa. Il lume tubarico risulta suddiviso in concamerazioni multiple dalla presenza di setti fibrosi. (*Per la cortesia del Dr. C. Giorlandino*). (*Da Maruotti e Reverberi, 1990*).

**Quadri clinici specifici**

In linea generale la PID ad etiologia gonococcica tende a manifestarsi con una sintomatologia rilevante caratterizzata da dolore intenso, da un rialzo febbrile superiore a 38 °C e da segni di cervicite.

La PID causata da *Chlamydia* si esprime con un quadro clinico più sfumato caratterizzato da dolore di durata maggiore ma di minore intensità, da valori della temperatura corporea meno elevati e dall'aumento della VES (Eschenbach, 1986).

*Sindrome di Fitz-Hugh-Curtis*

Nel 15-30% dei casi di PID il quadro clinico risulta complicato dall'insorgenza di una sindrome periepatitica o sindrome di Fitz-Hugh-Curtis (Onsrud, 1980; Lopez-Zeno *et al.*, 1985).

La sindrome periepatitica in fase acuta esordisce con un violento dolore di tipo pleuritico riferito all'arcata costale destra con irradiazione alla spalla e al braccio omolaterali. Questo stadio è caratterizzato, dal punto di vista anatomopatologico, dalla flogosi acuta della capsula di Glisson e del peritoneo che riveste la parete anteriore dell'addome; il dolore è legato all'interessamento del nervo frenico.

La sindrome di Fitz-Hugh-Curtis in fase acuta viene frequentemente confusa con la polmonite o con la colecistite.

Lo stadio cronico è caratterizzato da una dolenzia riferita all'ipocondrio destro o dalla assenza della sintomatologia e dalla formazione di aderenze del tipo «a corda di violino» fra la capsula di Glisson e la parete addominale anteriore (Lopez-Zeno *et al.*, 1985).

La diffusione dell'infezione dalla pelvi alla superficie epatica si verifica prevalentemente per via ematica o linfatica.

**Diagnosi**

È basata sui rilievi anamnestici e clinici e sui risultati delle indagini strumentali e di laboratorio.

Nonostante l'introduzione di protocolli piuttosto rigidi (tab. III), la diagnosi basata unicamente su criteri clinici può risultare erronea nel 35% dei casi (Walters e Gibbs, 1990).

È possibile dimostrare la presenza dei segni della flogosi:

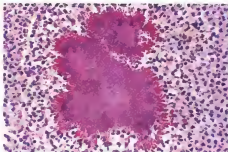



Fig. 3. Preparato istologico. Actinomicosi ovarica. Colorazione ematossilina-eosina. Nella parte centrale del preparato è evidente l'accumulo di colonie di *Actinomyces israelii*. Si noti il caratteristico fenomeno periferico di splendore (alone eosinofilo) su uno sfondo costituito da un infiltrato flogistico acuto. Paziente nullipara dell'età di 23 anni, portatrice di IUD medicato al rame da circa 5 anni. (*Da Maruotti e Reverberi, 1990*).

Fig. 4. Laparotomia. Esiti di PID da *Chlamydia trachomatis*: quadri aderenziali viscero-viscerali. (*Da Maruotti e Reverberi, 1990*).





Digitized by Google

Fig. 5. Laparotomia. Esiti di PID da *Chlamydia trachomatis*. Si noti la vela aderenziale che interessa il tratto ampollare e il padiglione tubarico (stesso caso della figura precedente). (*Da Maruotti e Reverberi, 1990*).

Fig. 7. Laparotomia. Esiti di PID. Le aderenze interessano l'intestino, la tuba e l'ovaio del lato destro che risulta vincolato alla parete pelvica. (*Da Maruotti e Reverberi, 1990*).

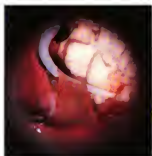



Fig. 6. Laparotomia. Esiti di PID da *Chlamydia trachomatis*. Dettaglio di una formazione aderenziale (stesso caso della figura precedente). (*Da Maruotti e Reverberi, 1990*).

Fig. 8. Ecotomografia. Sonda transaddominale (3,5 MHz). Scansione trasversale. Ascesso tubo-ovarico. Buona definizione dell'utero e degli echi endometriali. Posteriormente all'utero si evidenzia una formazione ad ecostruttura mista e a contorni mal definibili (*complex mass*). (Stesso caso della fig. 3). (*Da Maruotti e Reverberi, 1990*).

leucocitosi (G.B. > 10.000-15.000/mm³), aumento dei valori della VES e della proteina C reattiva.

Secondo Duk *et al.* (1989) l'aumento dei valori plasmatici di CA 125 potrebbe rappresentare un *marker* dell'estensione della malattia al peritoneo. L'isolamento del germe responsabile della malattia comporta l'allestimento di prove colturali con il materiale prelevato dai focolai di infezione.

La ricerca degli anticorpi specifici nel siero è attualmente possibile per quasi tutti i batteri agenti causali della PID.

**TAB. III. PID IN FASE ACUTA: CRITERI DIAGNOSTICI**

(da Sweet, 1987)

**Debbono essere tutti presenti:**
1) Dolorabilità dei quadranti addominali inferiori
2) Dolorabilità della *portio* alla palpazione
3) Dolorabilità degli annessi alla palpazione (anche unilaterale)

**In associazione ad uno dei seguenti:**
1) Temperatura corporea ≥ 38 °C
2) Globuli bianchi ≥ 10.500/mm³
3) Aspirazione di materiale purulento mediante culdocentesi
4) Presenza di una massa pelvica (alla palpazione bimanuale o all'esame ecotomografico)
5) VES > 15 mm/h
6) Presenza a livello della cervice di *Chlamydia trachomatis* o di *Neisseria gonorrhoeae*
7) Più di 5 globuli bianchi per campo (250×) all'osservazione della secrezione cervicale colorata con il metodo di Gram



Digitized by Google

All'esordio della sintomatologia i reperti ecografici sono piuttosto sfumati e di difficile interpretazione. L'esame ecografico risulta di notevole utilità nella diagnosi delle masse infiammatorie pelviche e degli ascessi tubo-ovarici che si esprimono, generalmente, con il quadro della *complex mass* (fig. 8); è possibile, inoltre, effettuare l'aspirazione ecoguidata di materiale infiammatorio (Gabaude *et al.*, 1987).

La recente introduzione delle sonde ecotomografiche endovaginali (fig. 9) ha comportato un sensibile aumento del potere di definizione delle strutture pelviche (Shafer e Sweet, 1989); con tale metodica è possibile ottenere informazioni dettagliate e precise sulla localizzazione, sulle dimensioni e sulla struttura interna delle masse pelviche che, inoltre, possono essere sottoposte ad aspirazione ecoguidata (Aboulghar *et al.*, 1990).

La tomografia assiale computerizzata e la tomografia a risonanza magnetica nucleare forniscono immagini utili ai fini diagnostici (O'Connor *et al.*, 1989).

La celioscopia rappresenta l'indagine fondamentale da eseguire nel sospetto di una PID (figg. 10 e 11) (Method, 1988). Si tratta di una procedura relativamente semplice che consente di porre esattamente la diagnosi grazie alla visualizzazione diretta degli organi pelvici ed alla possibilità di eseguire prelievi batteriologici, citologici ed istologici.

L'esame del secreto uretrale e la valutazione del liquido seminale del partner possono contribuire alla formulazione della diagnosi etiologica della PID.

**Prognosi**

Le sequele legate alla malattia sono frequenti.

*Recidiva*

La prevenzione delle recidive è basata sul trattamento del partner e sull'adozione di un mezzo contraccettivo di barriera o di un anticoncezionale orale.

*Infertilità*

Dopo un episodio di PID l'11,4% delle pazienti risulta infertile a causa della stenosi o dell'occlusione tubarica; questa percentuale aumenta fino al 53,9% dopo 3 o più episodi della malattia (Ledger, 1988).

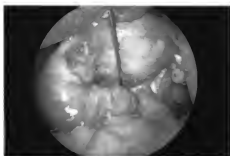



Fig. 10. Celioscopia. La tuba sinistra appare notevolmente aumentata di volume e distesa da una raccolta purulenta: piosalpinge. (*Da Maruotti e Reverberi, 1990*).

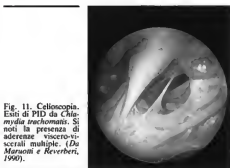



Fig. 11. Celioscopia. Esiti di PID da *Chlamydia trachomatis*. Si noti la presenza di aderenze viscero-viscerali multiple. (*Da Maruotti e Reverberi, 1990*).

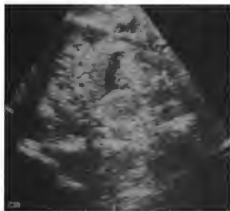



Fig. 9. Ecotomografia. Sonda endovaginale (6,5 MHz). Quadro ecografico di salpingite cronica. (*Per la cortesia del Dr. C. Giorlandino*). (*Da Maruotti e Reverberi, 1990*).

L'infezione gonococcica risulta meno frequentemente associata ad un danno tubarico permanente poiché il processo si dimostra generalmente confinato alla superficie della mucosa.

L'infezione da *Chlamydia* e l'infezione da aerobi e da anaerobi tendono ad oltrepassare la membrana basale interessando anche gli strati, muscolare e sieroso, della parete tubarica che viene così colpita a tutto spessore (Eschenbach, 1986). Lo sconfinamento oltre la membrana basale comporta l'insorgenza di un processo di fibrosi e di retrazione cicatriziale che rende permanente il danno anatomico a carico della tuba.

*Gravidanza ectopica*

Nelle pazienti che hanno sofferto di PID il rischio di gravidanza extrauterina è di entità 7-10 volte maggiore rispetto alle donne nella cui anamnesi non figurano episodi di flogosi annessiale (Weström, 1987). Questa complicanza è legata all'alterazione del lume dell'epitelio tubarico provocata dalla malattia.

*Sindrome abortiva*

È stato segnalato un aumento del tasso di abortività spontanea nelle donne che hanno sofferto di PID (Spence, 1989).





Digitized by Google

*Algie pelviche croniche*

Nel 15% delle pazienti, a distanza di 6 mesi dall'episodio flogistico acuto, è ancora possibile dimostrare la presenza di una sindrome dolorosa addomino-pelvica o della dispareunia profonda (Eschenbaeh, 1986). Questi disturbi sono legati all'insorgenza di quadri aderenziali.

**Terapia**

L'acquisizione recente della etiologia polimicrobica della PID ha determinato l'introduzione di protocolli terapeutici di associazione basati sulla somministrazione contemporanea di due farmaci in grado di coprire tutto lo spettro dei microrganismi più frequentemente isolati dal tratto genitale superiore delle pazienti affette da PID (Karchmer, 1989; Crombleholme *et al.*, 1989; Heinonen *et al.*, 1989; Gall e Constantine, 1990; Walters e Gibbs, 1990); attualmente si ritiene che non vi siano indicazioni alla somministrazione di un solo antibiotico (Shafer e Sweet, 1989; Crombleholme *et al.*, 1989).

Nelle tabb. IV e V sono stati riportati i protocolli terapeutici suggeriti dai Centers for Disease Control (*MMWR*, 1985; *MMWR*, 1987; Handsfield, 1990).

Il protocollo A è efficace nei confronti di *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* e della maggior parte dei batteri aerobi ed anaerobi isolati dalle infezioni pelviche; rappresenta il trattamento di scelta nei casi di PID sostenuti dal gonococco o da *Chlamydia trachomatis*.

Il protocollo B è efficace nei confronti della maggior parte dei ceppi di gonococco e di un ampio spettro di germi aerobi ed anaerobi, ma dimostra una attività subottimale nei confronti di *Chlamydia trachomatis*; rappresenta il trattamento di scelta nei casi di PID sostenuti da batteri aerobi ed anaerobi, nelle recidive e negli ascessi pelvici.

**TAB. IV. PID IN FASE ACUTA: TRATTAMENTO OSPEDALIERO**
(Da: *MMWR*, 1985; *MMWR*, 1987; Handsfield, 1990)

| | |
|---|---|
| **Protocollo A:** | * doxiciclina 100 mg ogni 12 h per via e. v. |
| | in associazione con: |
| | * cefoxitina 2 g ogni 6 h per via e. v. |
| | successivamente: |
| | ** doxiciclina 100 mg ogni 12 h per via orale |
| **Protocollo B:** | * clindamicina 900 mg ogni 8 h per via e. v. |
| | in associazione con: |
| | * gentamicina 2 mg/kg (dose di attacco) quindi: 1,5 mg/kg ogni 8 h per via e. v. |
| | successivamente: |
| | ** clindamicina 450 mg ogni 8 h per via orale |

* Questi farmaci debbono essere somministrati per un periodo minimo di 4 giorni e per almeno 48 h dopo un miglioramento clinico evidente.
** Questi farmaci debbono essere somministrati fino al completamento di un ciclo della durata totale di 10-14 giorni.

**TAB. V. PID IN FASE ACUTA: TRATTAMENTO AMBULATORIALE**
(Da: *MMWR*, 1985; *MMWR*, 1987; Handsfield, 1990)

* Ceftriaxone 250 mg per via i. m.

in associazione con

doxiciclina 100 mg ogni 12 h *per os*, per 10-14 giorni

* Può essere sostituito dalla somministrazione di cefoxitina 2 g per via i. m. nelle aree geografiche dove non è stata dimostrata la presenza di ceppi resistenti di *Neisseria gonorrhoeae*.

Sono attualmente allo studio numerosi protocolli basati sull'impiego di altri antibiotici (cefotetan, tobramicina, metronidazolo, ciprofloxacina, etc.) (Sweet *et al.*, 1988; Heinonen *et al.*, 1989; Gall e Constantine, 1990).

**Bibliografia**


Aboulghar M. A. *et al.*, *Fertil. Steril.*, 1990, **53**, 311.
Aimone V. *et al.*, *Atti del LXV Congresso Nazionale della Società Italiana di Ginecologia e Ostetricia*, 1988, C.I.C., Roma, p. 549.
Bartlett J. G., *Anaerobic bacteria: general concepts*, in Mandell G. L., Douglas R. G. jr., Bennett J. E. eds., *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 1990, 3 ed., Churchill Livingstone, New York, p. 1828.
Brook I. *et al.*, *J. Infect. Dis.*, 1984, **149**, 924.
Brook I., *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1986, **155**, 424.
Brook I., *Microbiol. Rev.*, 1986, **50**, 452.
Buchan H., Vessey M., *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 1989, **96**, 1219.
Campagnoli C. *et al.*, *Atti del LXV Congresso Nazionale della Società Italiana di Ginecologia e Ostetricia*, 1988, C.I.C., Roma, p. 509.
Centers for Disease Control, *MMWR*, 1985, **34** (Suppl.), 1.
Centers for Disease Control, *MMWR*, 1987, **36** (Suppl.), 1.
Crombleholme W. R. *et al.*, *Am. J. Med.*, 1989, **87**, 5A-142S.
Danesino V., Guaschino S., *Atti del LXV Congresso Nazionale della Società Italiana di Ginecologia e Ostetricia*, 1988, C.I.C., Roma, p. 483.
De Placido G. *et al.*, *Atti del LXV Congresso Nazionale della Società Italiana di Ginecologia e Ostetricia*, 1988, C.I.C., Roma, p. 685.
Duk J. M. *et al.*, *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, 1989, **68**, 637.
Eschenbach D. A., *Acute Pelvic Inflammatory Disease*, in Sciarra J. J., Droegemueller W. eds., *Gynecology and Obstetrics*, 1986, vol. 1, eap. 44, Harper & Row, Philadelphia, p. 1.
Fedele L. *et al.*, *Atti del LXV Congresso Nazionale della Società Italiana di Ginecologia e Ostetricia*, 1988, C.I.C., Roma, p. 715.
Gabaude B. *et al.*, *Rev. Fr. Gynécol. Obstét.*, 1987, **82**, 471.
Gall S. A., Constantine L., *Obstet. Gynecol.*, 1990, **75**, 282.
Giannola C., Allegra A., *Atti del LXV Congresso Nazionale della Società Italiana di Ginecologia e Ostetricia*, 1988, C.I.C., Roma.
Gioannini P., *Atti del LXV Congresso Nazionale della Società Italiana di Ginecologia e Ostetricia*, 1988, C.I.C., Roma, p. 471.
Grifo J. A. *et al.*, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1989, **160**, 26.
Hager W. D. *et al.*, *Obstet. Gynecol.*, 1983, **61**, 113.
Handsfield H. H., *Neisseria gonorrhoeae*, in Mandell G. L., Douglas R. G. Jr., Bennett J. E. eds., *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 1990, 3 ed., Churchill Livingstone, New York, p. 1621.
Heinonen P. K. *et al.*, *Am. J. Med.*, 1989, **87**, 5A-152S.
Hellberg D. *et al.*, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1988, **158**, 910.
Henry-Suchet J., *Rev. Fr. Gynecol. Obstet.*, 1984, **79**, 625.
Henry-Suchet J. *et al.*, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1980, **138**, 1022.
Holmes K. K., *Lower genital tract infections in women: Cystitis, urethritis, vulvovaginitis and cervicitis*, in Holmes K. K., Mardh P.-A., Sparling P. F., Wiesner P. eds., *Sexually Transmitted Diseases*, 1985, McGraw-Hill, New York, p. 575.
Howe R. S. *et al.*, *Fertil. Steril.*, 1988, **49**, 726.
Karchmer A. W., *Acute Pelvic Inflammatory Disease*, in Rubenstein E., Federman D. D. eds., *Medicine*, 1989, 7 (XXII), Scientific American, New York.
Keith L. G. *et al.*, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1984, **149**, 215.
Keith L. G. *et al.*, *Curr. Probl. Obstet. Gynecol.*, 1986, 1.
Keith L. G. *et al.*, *Int. J. Fertil.*, 1989, **34**, 109.
Larsson P.-G. *et al.*, *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, 1989, **68**, 217.
Ledger W. J., *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1988, **158**, 687.
Lopez-Zeno J. A. *et al.*, *J. Reprod. Med.*, 1985, **30**, 567.
Marchbanks P. A. *et al.*, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1990, **162**, 639.
Maruotti T., Reverberi L., *Medicina-Riv. EMI*, 1990, **10**, 108.
Method M. W., *J. Reprod. Med.*, 1988, **33**, 901.
Miettinen A. *et al.*, *Sex. Transm. Dis.*, 1990, **17**, 10.
Nicoletti G., Tempera G., *Atti del LXV Congresso Nazionale della Società Italiana di Ginecologia e Ostetricia*, 1988, C.I.C., Roma.
O'Connor K. F. *et al.*, *Radiology*, 1989, **170**, 559.
Onsrud M., *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, 1980, **59**, 69.
Paavonen J. *et al.*, *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 1987, **94**, 454.
Pellegrini S. *et al.*, *Contraccez. Fertil. Sessual.*, 1987, **14**, 69.
Pescetto G. *et al.*, *Manuale di ginecologia e ostetricia*, 1989, vol. 1, SEU, Roma, p. 382.
Phillips B. *et al.*, *Cancer*, 1985, **56**, 2789.
Porcelli A., *Atti del LXV Congresso Nazionale della Società Italiana di Ginecologia e Ostetricia*, 1988, C.I.C., Roma, 1988.
Puolakkainen M. *et al.*, *J. Clin. Microbiol.*, 1986, **23**, 924.
Rosenfeld D. *et al.*, *Fertil. Steril.*, 1983, **39**, 44.
Shafer M.-A., Sweet R. L., *Pediatr. Clin. North Am.*, 1989, **36**, 513.
Simon G. L. *et al.*, *J. Infect. Dis.*, 1982, **145**, 72.
Spence M. R., *J. Reprod. Med.*, 1989, **34**, 605.






Digitized by Google

Surico N., *Atti del LXV Congresso Nazionale della Società Italiana di Ginecologia e Ostetricia*, 1988, C.I.C., Roma, p. 579.
Sweet R. L., *Infect. Dis. Clin. North Am.*, 1987, **1**, 199.
Sweet R. L. *et al.*, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1988, **158**, 736.
Taylor-Robinson D., *Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis*, in Mandell G. L., Douglas R. G. jr., Bennett J. E. eds., *Principles and Practice of Infectious Disease*, 1990, 3 ed., Churchill Livingstone, New York, p. 1458.
Teisala K., *Arch. Gynecol. Obstet.*, 1988, **243**, 225.
Toth A., Lesser M., *Fertil. Steril.*, 1981, **36**, 88.
Trinchieri G., Perussia B., *Immunol. Today*, 1985, **6**, 131.
Unanue E. R., Allen P. M., *Science*, 1987, **236**, 551.
Walters M. D., Gibbs R. S., *Obstet. Gynecol.*, 1990, **75**, 867.
Washington A. E., Arno P. S., *J.A.M.A.*, 1986, **255**, 1735.
Weström L., *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1980, **138**, 880.
Weström L., *Contraception*, 1987, **36**, 111.
Weström L., Mardh P.-A., *Salpingitis*, in Holmes K. K., Mardh P.-A., Sparling P. F., Wiesner P. J. eds., *Sexually Transmitted Disease*, 1984, McGraw-Hill, New York, p. 615.
Wilkins K. M. *et al.*, *Contraception*, 1989, **39**, 205.
Williams C. E. *et al.*, *Br. J. Radiol.*, 1990, **63**, 134.
Wolner-Hanssen P. *et al.*, *J.A.M.A.*, 1990, **263**, 54a.
Wolner-Hanssen P. *et al.*, *J.A.M.A.*, 1990, **263**, 1936b.

TEODORO MARUOTTI, LAMBERTO PIATTELLI E GIUSEPPE MARUOTTI

**MALATTIE AUTOIMMUNI**: V. MALATTIE AUTOIMMUNI (IX, 151); ORGANOSPECIFICI E NON-ORGANOSPECIFICI AUTOANTICORPI (X, 1878); ORGANOSPECIFICI E NON-ORGANOSPECIFICI AUTOANTICORPI*.

## MALEDIZIONE DI ONDINE, SINDROME DELLA

F. *syndrome de la malédiction d'Ondine*. - I. *Ondine's curse*. - T. - *Der Fluch von Undine*. - S. *maldición de Ondina*.

«Ondine, una ninfa marina, tradita dal suo sposo, lo privò di tutte le funzioni automatiche: fu sufficiente un momento di disattenzione per dimenticarsi di respirare e morire». Così recita un'antica leggenda germanica.

La respirazione è regolata da due sistemi di controllo, anatomicamente distinti ma funzionalmente integrati: il sistema automatico (metabolico) e il sistema volontario (comportamentale).

Il sistema *automatico* (metabolico) — i cui neuroni e motoneuroni integrati sono localizzati nel midollo allungato e nel ponte — è principalmente deputato al mantenimento dell'equilibrio acido-base e della omeostasi gassosa. In accordo con questa funzione, esso riceve impulsi afferenti dai chemiocettori periferici e centrali sensibili alle variazioni di pH, $pCO_2$ e $pO_2$ e dai meccanorecettori broncopolmonari che sono sensibili al grado di stiramento del parenchima e alla entità del flusso aereo. Il sistema di controllo *volontario* (comportamentale) — i cui neuroni originano a livello sopramidollare e nelle strutture corticali — utilizza l'apparato ventilatorio per funzioni non primariamente collegate agli scambi gassosi (ad es., la fonazione).

In condizioni patologiche, entrambi i sistemi di controllo possono essere compromessi: alterazioni del sistema volontario comportano disfasia, disprassia e sindromi da iperventilazione alveolare; quelle, invece, del sistema automatico (unitamente ad alterazioni dell'apparato respiratorio neuromuscolare, della gabbia toracica, del polmone e delle vie aeree) determinano ipoventilazione alveolare (centrale o periferica: tab. 1).

Nell'ambito della ipoventilazione alveolare *centrale* è opportuno distinguere una forma *primaria* (idiopatica: nella quale non vi è evidenza di un danno neurologico organico) da forme *secondarie* nelle quali, al contrario, sono presenti lesioni neurologiche specifiche.

In questo ambito si colloca la *sindrome della maledizione di Ondine*, eponimo per la prima volta impiegato da Severinghaus e Mitchell (1962) per descrivere pazienti che — a seguito di interventi chirurgici interessanti il midollo cervicale alto o il tronco encefalico — presentavano apnea durante il sonno tanto da necessitare di ventilazione assistita. Da allora il termine è stato liberamente impiegato per descrivere sia pazienti con ipoventilazione alveolare primaria (solitamente bambini piccoli) sia pazienti con ipoventilazione secondaria a lesioni neurologiche (della giunzione cervicomidollare, del pavimento del ponte o in conseguenza di interventi chirurgici di cordotomia ventrolaterale con interruzione del tratto spinotalamico).

La sindrome è la conseguenza di una lesione selettiva del sistema di controllo *automatico* (involontario) della ventilazione: questi pazienti cessano di respirare solo che se lo dimentichino. Non sono del tutto definiti i rapporti di questa sindrome con le *sleep apnea syndromes* e con la SIDS (*sudden infant death syndrome*) nella quale sono state dimostrate anomalie strutturali dei glomi carotidei.

I *sintomi* dei pazienti con ipoventilazione alveolare primitiva sono la conseguenza della ipossiemia-ipercapnia e acidosi respiratoria: poliglobulia, cianosi, importanti alterazioni del sonno, cefalea mattutina, profonda astenia e sonnolenza nelle ore diurne. Da un punto di vista funzionale l'alterazione più caratteristica è costituita da una ridotta o assente risposta ventilatoria alla ipercapnia.

La *terapia* è comprensibilmente difficile: sono stati impiegati sia mezzi farmacologici (analettici respiratori, ossigenoterapia notturna) che tecniche meccaniche, la più efficace delle quali è costituita dal *pacing* diaframmatico mediante stimolazione elettrofrenica.

**Bibliografia**

Devereux M. W., Keane J. R., Davis R. L., *Arch. Neurol.*, 1973, **24**, 46.
Millman R. P., Fishman A. P., *Disorders of Alveolar Ventilation*, in Fishman A. P. ed., *Pulmonary Diseases and Disorders*, 1988, McGraw-Hill, New York.
Phillipson E. A., *Hypoventilation Syndromes*, in Murray J. F., Nadel J. A. eds., *Textbook of Respiratory Medicine*, 1988, Saunders, Philadelphia.
Severinghaus J. W., Mitchell R. A., *Clin. Resp.*, 1962, **10**, 122.

VITTORIO GRASSI

**TAB. I. IPOVENTILAZIONE ALVEOLARE CRONICA**

| Centrale (con apparato toracopolmonare normale) | Periferica (con compromissione meccanica dell'apparato toracopolmonare) |
|---|---|
| 1. Primitiva (idiopatica). | 1. Malattie neuromuscolari periferiche: poliomielite, sindrome di Guillain-Barré, *myasthenia gravis*, polimiosite, paralisi diaframmatica bilaterale. |
| 2. Depressione funzionale degli stimoli ventilatori: sonno, ipercapnia, alcalosi metabolica, farmaci (narcotici sedativi), mixedema. | 2. Alterazioni della gabbia toracica: cifoscoliosi, sindrome della obesità-ipoventilazione. |
| 3. Depressione organica delle vie motorie (*Ondine's curse*). | 3. Ostruzione delle vie aeree superiori: stenosi tracheale, apnea ostruttiva del sonno. |
| 4. Danno anatomico dei neuroni respiratori: poliomielite bulbare, encefalite, infarto - neoplasie del tronco encefalico, cordotomia cervicale bilaterale. | 4. Broncopneumopatia cronica ostruttiva: bronchite - enfisema. |

Digitized by Google

## MAMMELLA [v. vol. IX, col. 222]

### TUMORI

SOMMARIO



### INTRODUZIONE

Il problema dei tumori del seno ha senza dubbio attirato negli ultimi anni una rinnovata, ulteriore attenzione sia da parte dei ricercatori specializzati in questo campo della medicina, sia da parte del grande pubblico. Ciò è avvenuto e avviene, a nostro parere, per due fondamentali ragioni: la prima è che si sono aperte nuove prospettive di comprensione dei meccanismi tumorali proprio tramite recenti ricerche di tipo biologico svolte o in fase di svolgimento sul carcinoma mammario; la seconda è che sono aumentate le possibilità della medicina moderna di migliorare non solo la sopravvivenza, ma soprattutto la qualità di vita delle pazienti affette da questa malattia (Veronesi e Costa, 1986).

A proposito di progressi in campo biologico, è proprio sui tumori della mammella che sono cominciati gli studi per la determinazione dei recettori ormonali, cioè di quelle proteine, poste sulla membrana della cellula neoplastica o nel suo citoplasma interno, deputate al trasporto di alcuni ormoni dall'ambiente esterno alle strutture più intime della cellula (Curtarelli e Scanni, 1980). Era da tempo noto, infatti, che esistono tumori mammari particolarmente sensibili all'azione degli estrogeni (tanto è vero che le pazienti che ne erano affette beneficiavano di un'asportazione delle ovaie); la scoperta recente dei recettori per gli ormoni (estrogeni e progestinici) ne ha svelato il più fine meccanismo biologico. Inoltre, questa nuova conoscenza ottenuta dagli studi sul carcinoma mammario ne ha poi consentite altre aprendo così il campo della ricerca sulla cosiddetta ormonodipendenza delle neoplasie (esempi classici sono costituiti dagli studi sul carcinoma della prostata e su quello renale).

Sempre dal punto di vista biologico altre importanti acquisizioni sono state ottenute sui tumori mammari relativamente alla loro velocità di crescita e alla loro «chemiosensibilità»: il primo test consente oggi di comprendere meglio se la neoplasia asportata da una determinata paziente mostra una elevata o ridotta velocità di crescita: è intuitivo che questo dato riveste una notevole importanza soprattutto in termini prognostici, cioè per prevedere se la paziente stessa avrà un maggior o minore rischio di diffusione metastatica e quindi di ripresa della malattia (Silvestrini *et al.*, 1979).

Gli studi di chemiosensibilità tendono invece a fornire previsioni sulla capacità di farmaci antitumorali oggi disponibili di agire efficacemente contro le cellule del tumore mammario: sebbene sia ancora lontana la possibilità di identificare per ogni paziente una terapia personale, è vero che passi importanti sono stati compiuti su questo cammino. Anche gli studi di biologia molecolare sui fattori di crescita e sugli oncogèni (sottounità del patrimonio genetico di una cellula, responsabili in determinate condizioni della sua trasformazione neoplastica) hanno avuto particolare sviluppo proprio sui tumori della m.

Sono tuttora in corso ricerche concernenti eventuali meccanismi di controllo genetici responsabili o associati al carcinoma della m. Sino ad ora esse hanno riguardato, in particolare, famiglie in cui più membri erano stati colpiti dalla neoplasia oppure casi in cui questa era insorta precocemente o bilateralmente, anche in associazione con altre neoplasie. In un gruppo di famiglie ad alto rischio per carcinoma della m. sono stati identificati due *loci* genetici posti rispettivamente sul braccio lungo e su quello corto del cromosoma 17 e che sono risultati associati con l'ereditarietà della neoplasia. Il *locus* del braccio lungo sembra associato alla suscettibilità a sviluppare la malattia in giovane età, mentre il *locus* del braccio corto è stato identificato studiando sei famiglie affette dalla sindrome di Li-Fraumeni (v. LI-FRAUMENI, SINDROME DI*). Si è stimato che, in una famiglia portatrice di una predisposizione genetica alla malattia, il carattere venga ereditato in modo dominante così che la metà delle pazienti ne è portatrice. In ogni caso, *non esiste* tuttora alcun fenotipo caratteristico di questa predisposizione e pertanto non è possibile identificare le persone a rischio se non con analisi genetiche. Inoltre, solo una percentuale ridotta delle pazienti è portatrice dei due geni incriminati e pertanto si ritiene che debbano esservene implicati degli altri.

La seconda ragione che ha indotto una crescita di attenzione per questo tipo di tumore nel pubblico generale è, come già accennato, il miglioramento della qualità di vita delle pazienti in terapia e in particolare il consolidamento, negli anni più recenti, di due nuove tecniche chirurgiche, la prima definita *chirurgia conservativa della m.* e la seconda *chirurgia ricostruttiva del seno*. Gli studi attivati nei primi anni '70 sulla possibilità di conservare la m. nei casi in cui il tumore abbia limitate dimensioni si sono con gli anni rivelati positivi ed è oggi sempre più diffusa la tecnica della chirurgia conservativa per le neoplasie in fase iniziale (Veronesi, 1987). In particolare è proprio di origine italiana il programma terapeutico chiamato in sigla QU.A.RT.: esso comprende due fasi chirurgiche e una radioterapica. L'intervento operatorio vero e proprio si compone di una «quadrantectomia» (QU.) (asportazione del quadrante mammario contenente il tumore) e di una rimozione completa dei linfonodi ascellari (A.), conservando tuttavia i muscoli grande e piccolo pettorale (v. sotto: *terapia chirurgica*, col. 4817). In tal modo si può poi ricostruire una m. di forma quasi normale sebbene, ovviamente, di dimensioni più ridotte, avendo comunque tutte le informazioni sullo stato dei linfonodi. La procedura chirurgica è poi integrata da un trattamento radiante (RT.) con due campi tangenziali di alte energie e uno di roentgenterapia sulla cicatrice, al fine di prevenire al massimo la formazione di recidive locali.

Lo stesso discorso vale per le possibilità di ricostruire la m. dopo mastectomia, rese oggi più praticabili dal miglioramento delle tecniche di chirurgia plastica e dei materiali impiegati per le protesi (Grisotti, 1988). In diversi casi è oggi possibile inserire la protesi mammaria al termine dello



Digitized by Google

stesso intervento di mastectomia evitando così alla paziente sia il trauma dell'amputazione sia il fastidio di una seconda anestesia totale. In altri casi ciò non è possibile o consigliabile dal punto di vista estetico e qualora lo strato cutaneo disponibile sia scarso è necessario ricorrere a delle protesi cosiddette «ad espansione» perché il loro ingrandimento volumetrico avviene progressivamente tramite successive iniezioni del liquido adatto. Le protesi vengono solitamente collocate sotto il muscolo grande pettorale ma in alcuni casi possono essere sostituite da prelievi di tessuto adiposo e cutaneo da altri distretti corporei (soprattutto addome) (v. sotto col. 4831).

## PREVENZIONE

Com'è noto le possibilità di prevenzione di un tumore dipendono largamente dalle conoscenze disponibili sulle sue cause. Per quanto riguarda i tumori della m. l'attenzione degli epidemiologi si è andata concentrando negli ultimi anni soprattutto su due possibili fattori di rischio: la dieta e la condizione ormonale.

Per quanto riguarda l'*alimentazione*, i principali imputati sono i grassi e secondo molti studiosi essi sarebbero alla base, per es., delle importanti differenze che esistono, in termini di rischio di malattia, fra le popolazioni con dieta povera di grassi (ad es. i giapponesi) e quelle invece che ne fanno largo uso (ad es. gli abitanti degli U.S.A. e del Canada) (Cohen, 1987). Una risposta a questo quesito potrà forse venire a metà degli anni '90 quando si concluderà uno dei più grandi studi della storia della medicina e cioè la vastissima ricerca avviata negli U.S.A. su alcune decine di migliaia di donne volontarie (soprattutto infermiere) che hanno accettato di ridurre secondo precise istruzioni il contenuto di grassi della loro dieta del 30% e di veder confrontato con il gruppo di controllo (di uguale età, abitudini alimentari, provenienza geografica) il rischio di sviluppare un tumore della m.

Per quanto riguarda l'*assetto ormonale*, invece, l'attenzione degli studiosi si concentra tuttora soprattutto sugli estrogeni e sugli antiestrogeni, anche se rimangono interessanti ipotesi da verificare sul ruolo degli androgeni. Da quando si è concluso l'importante studio inglese sulla efficacia nel carcinoma mammario delle donne oltre i 50 anni di un composto antiestrogeno chiamato tamoxifene (già presentato nella seconda edizione di questa Enciclopedia [v. MAMMELLA, IX, 289]) si è infatti cominciato a prendere in considerazione la possibilità che il farmaco possa anche prevenire questi tumori in alcune popolazioni selezionate. I dati più recenti sulla sua efficacia, in effetti, confermano che nelle pazienti trattate per lunghi periodi con tamoxifene (v.) (Nolvadex®) si rileva una diminuita incidenza di tumore controlaterale (cioè di una nuova neoplasia che colpisce la m. rimasta sana dopo la prima operazione) (Cuzik, 1987).

La capacità di prevenire il tumore controlaterale (e quindi in un futuro di prevenire i carcinomi mammari specifici) viene oggi anche attribuita ad alcune sostanze quali gli analoghi sintetici della Vit. A (retinoidi di sintesi) (Costa *et al.*, 1986). Naturalmente queste ricerche richiedono vastissimi numeri di pazienti che accettino di far parte dello studio e prolungati periodi di osservazione.

In conclusione, è prevedibile che non si avranno indicazioni precise sulla possibilità di prevenire chimicamente il carcinoma della m. prima della metà degli anni '90, ma certamente nuove strade sono state aperte in questa direzione.

**Bibliografia**

Per la bibliografia si rinvia alle coll. 4835-4836.

UMBERTO VERONESI E ALBERTO COSTA

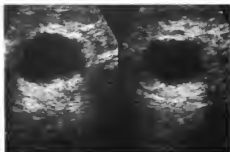



Fig. 1. Cisti: lesione rotondeggiante anecogena, con rinforzo acustico posteriore (10 MHz).

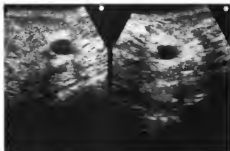



Fig. 2. Piccola cisti (8 mm) a contenuto denso. Modesta ecogenicità del contenuto cistico. Limitato rinforzo posteriore. Ben evidenti le ombre acustiche laterali (10 MHz).

## ECOGRAFIA MAMMARIA

### Tecnica

A differenza delle altre metodiche diagnostiche senologiche l'ecografia mammaria ha subito notevoli miglioramenti tecnologici negli ultimi 10 anni e il ruolo che essa riveste oggi è certamente diverso da quello che le poteva essere riservato all'inizio degli anni '80.

L'ecografia mammaria viene condotta mediante sonde lineari o meccaniche, opportunamente focalizzate, ad alta frequenza (7,5-10 MHz), che consentono una risoluzione di immagine nettamente superiore alle sonde impieganti una frequenza inferiore.

### Semeiotica ecografica

Il parenchima ghiandolare è omogeneamente iperecogeno mentre il grasso mammario è ipoecogeno. Considerando che le lesioni nodulari mammarie di interesse clinico sono *ipoecogene* è chiaro come l'ecografia risulti più sensibile nelle donne giovani, in cui il parenchima è preponderante, piuttosto che nelle donne anziane, quando si è già instaurata l'involuzione adiposa della ghiandola.

L'immagine ecografica delle *cisti* è quella tipica di formazione anecogena, rotonda, con rinforzo posteriore ed ombre acustiche laterali (fig. 1). Queste caratteristiche pos-





Digitized by Google

Fig. 3. Cisti a contenuto ematico con vegetazione solida ipoecogena che occupa circa metà del cavo cistico (10 MHz).

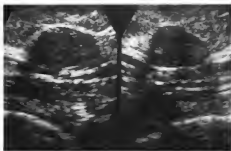



Fig. 4. Fibroadenoma: formazione solida, chiaramente ipoecogena rispetto al grasso antistante, con limiti netti e ombre acustiche laterali (10 MHz).

sono peraltro essere meno evidenti per lesioni molto piccole a contenuto denso o corpuscolato che possono apparire come lesioni solide a limiti netti (fig. 2). La presenza di vegetazioni intracistiche (per lo più dovute a papillomi benigni e assai raramente al cancro; fig. 3) è altrettanto evidente che nella pneumocistografia.

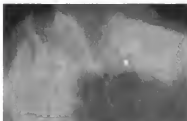
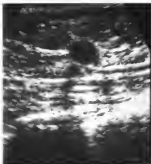



Fig. 5. Cancro a contorni netti: formazione solida, fortemente ipoecogena, rotondeggiante, con accenno ad ombre acustiche laterali (10 MHz).

I *fibroadenomi* appaiono come formazioni ipoecogene a contorni netti, generalmente polilobati, spesso con ombre acustiche laterali (fig. 4). Non è facile peraltro una diagnosi differenziale con neoplasie maligne a contorni netti, fortunatamente rare (fig. 5). Nel fibroadenoma sono ben visibili le tipiche calcificazioni a zolla che presentano di regola assorbimento posteriore.

Non esiste una semeiotica specifica delle varie forme di *displasia-iperplasia* che restano diagnosi di pertinenza del patologo e che all'ecografia non sono differenziabili dal normale parenchima. Una eccezione può essere rappresentata dall'epiteliosi infiltrante, o *radial scar*, la cui area di distorsione parenchimale può essere riconoscibile all'ecografia come un'area ipoecogena sfumata, talora con ombra acustica posteriore (fig. 6). Si tratta comunque di una evenienza rara, non sufficiente a far diagnosi ma se mai utile per un prelievo ecoguidato.

Il *cancro* può assumere diversi aspetti ecografici. Lo scirro classico appare come un'area ipoecogena a limiti sfumati o frastagliati e ha classicamente un'ombra acustica posteriore (fig. 7). Quest'ultima può essere del tutto assente per lesioni di limitate dimensioni (fig. 8) o quando la componente fibrosa è modesta (fig. 9): in questi casi la diagnosi differenziale si basa solo sulla morfologia dei contorni e quando questi sono netti la lesione non è distinguibile da un fibroadenoma, analogamente a quanto avviene per la mammografia. Quando l'evidenza del cancro è sostenuta solo da microcalcificazioni molto spesso l'ecografia non rileva alcuna anormalità. Perché le calcificazioni siano

Fig. 6. *Sopra*: mammografia: immagine stellata che distorce la struttura della normale densità ghiandolare: epiteliosi infiltrante (*radial scar*). *A destra*: stesso caso, area ipoecogena a limiti indistinti con ombra acustica posteriore (10 MHz).





Digitized by Google

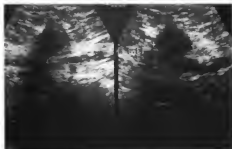



Fig. 7. Carcinoma infiltrante a morfologia scirrosa: formazione solida ipoecogena a contorni irregolari, con evidente ombra acustica posteriore (10 MHz).

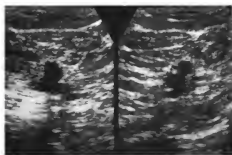



Fig. 8. Carcinoma infiltrante non palpabile: formazione ipoecogena a limiti non regolari, senza accenno a ombra acustica posteriore (10 MHz).

visibili è necessario che siano di diametro superiore a 1-2 mm (fig. 10) o che siano circoscritte nel contesto di una formazione ipoecogena che fornisce il sufficiente contrasto (fig. 11). In ogni caso l'evidenza di microcalcificazioni all'ecografia non consente mai la diagnosi differenziale ma può solo essere utile al prelievo mirato o alla localizzazione preoperatoria.

**Impiego clinico e risultati**

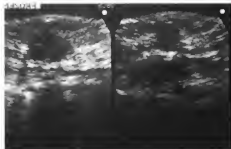
L'esecuzione di una ecografia mammaria presuppone l'esistenza di una patologia focale evidenziata all'esame clinico o alla mammografia. L'ecografia può evidenziare una lesione non palpabile identificata alla mammografia (Ciatto, 1990), ma la ricerca sistematica ecografica delle lesioni precliniche in soggetti asintomatici è impensabile: l'esame ecografico completo di entrambe le m. alla ricerca di una lesione minima richiederebbe un tempo eccessivamente lungo, non riuscirebbe comunque ad identificare buona parte delle neoplasie precliniche (specie quelle corrispondenti a gruppi di microcalcificazioni) e identificherebbe un numero elevato di aree ipoecogene di incerto significato, nella stragrande maggioranza sostenute da aree adipose o fibroadenomi, ma di cui sarebbe necessario l'approfondimento per lo meno citologico. Non si può prefigurare



Fig. 9. Carcinoma palpabile, a crescita espansiva, non infiltrante: formazione ipoecogena a limiti finemente irregolari, echi disomogenei, senza ombra acustica posteriore (10 MHz).

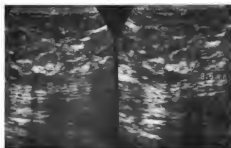



Fig. 10. Carcinoma intraduttale non palpabile: gruppo di calcificazioni, chiaramente iperecogene rispetto al parenchima circostante, senza evidenza di formazione solida: la calcificazione più voluminosa presenta assorbimento posteriore (10 MHz).

Fig. 11. Carcinoma infiltrante palpabile: formazione solida fortemente ipoecogena, a contorni irregolari: ben evidenti alcune calcificazioni iperecogene, a morfologia irregolare, nel contesto della formazione solida (5 MHz).

quindi uno *screening* ecografico ma solo l'uso dell'ecografia come test di secondo livello in presenza di anomalia clinica e/o mammografica.

Pur essendo molto elevata la specificità dell'ecografia



Digitized by Google

nella diagnosi di cisti, la diagnosi differenziale tra lesioni cistiche e solide non è il pregio fondamentale dell'ecografia. L'agoaspirazione ottiene al contempo diagnosi e terapia delle cisti ed è quindi un approccio preferibile in caso di tumefazione palpabile. Nei rari casi (Ciatto *et al.*, 1987) in cui la cisti abbia contenuto emorragico o sieroematico l'ecografia è preferibile alla pneumocistografia in quanto è più rapida e più semplice e consente di identificare altrettanto bene eventuali lesioni vegetanti intracistiche (Ciatto, 1990).

Nella diagnostica differenziale delle lesioni solide, l'ecografia è certamente più utile nelle donne giovani in quanto la presenza di seno denso radiologico rende meno valido l'apporto della mammografia (v.; v.*). Può essere buona regola impiegare sistematicamente l'ecografia nella diagnosi differenziale delle lesioni palpabili al di sotto dei 40 anni, ricorrendo alla mammografia nei casi in cui sussista un dubbio ulteriore. Al contrario la mammografia dovrebbe essere il test di secondo livello di scelta in caso di lesione palpabile in donne di 40 e più anni, riservando l'esecuzione dell'ecografia ai casi dubbi o radiologicamente densi (assai meno frequenti in questa fascia di età) (Ciatto, 1988).

In particolare l'ecografia può essere d'aiuto in presenza di addensamenti asimmetrici, non valutabili per la densità radiologica, di fatto corrispondenti a semplici aree di parenchima ghiandolare: la presenza di un'area omogeneamente iperecogena consente di risolvere il caso. La presenza di un'area ipoecogena, spesso circondata da parenchima normale, conferma l'opportunità di ulteriori accertamenti.

Di fronte a lesioni nodulari solide a contorni netti o irregolari alla clinica e/o alla mammografia in genere l'ecografia non fa che confermare tali caratteristiche, non contribuendo in modo particolare alla diagnosi finale. Parlare di sensibilità e di specificità per l'ecografia è discutibile trattandosi di un test applicato su una casistica selezionata, e non è in ogni caso possibile un confronto con altri test, quali la clinica e la mammografia, che hanno un impiego assai più vasto su casistica assai meno selezionata. Per le lesioni palpabili è verosimile che i livelli di sensibilità siano pari alla mammografia e superiori alla clinica, ma per le lesioni non palpabili la sensibilità dell'ecografia è certamente inferiore (Ciatto, 1988).

Essa è invece particolarmente utile nel guidare l'agoaspirato sul bersaglio (v. sotto, *esame citologico in senologia*). Quando la lesione da aspirare è di piccole dimensioni, o profonda, o ha morfologia stellata, infiltrante, spesso esiste una discrepanza tra le dimensioni reali e quelle valutabili alla palpazione che tende ad apprezzare come «lesione» anche il parenchima normale o il grasso che circonda la lesione vera e propria. Se l'agoaspirato viene eseguito a mano libera è possibile che l'ago campioni non la lesione ma zone immediatamente alla sua periferia. L'esecuzione di un aspirato ecoguidato (Ciatto, 1990; Rizzatto, 1988) è rapida e semplice e consente di prelevare il materiale esattamente dalla lesione che interessa, nel contesto della quale è facile identificare la punta dell'ago esplorante. Esistono a tal fine sonde «dedicate» che dispongono di una guida per l'ago che penetra nella m. lungo il piano di scansione. In realtà con un po' di esperienza l'agoaspirato a mano libera con la mano sinistra che impugna la sonda e la destra che inserisce l'ago perpendicolarmente al piano di scansione è altrettanto valida, assai più semplice e rapida e quindi da preferire (v. anche sotto, col. 4808).

**Bibliografia**

Ciatto S., *Diagnosi del carcinoma della mammella*, in Veronesi U., *Carcinoma della mammella*, 1988, Sorbona, Milano, pp. 161-180.
Ciatto S., *Diagnosi differenziale del cancro non palpabile della mammella*, in Cataliotti L., Ciatto S., Luini A., *Le neoplasie precliniche della mammella*, 1990, Sorbona, Milano, pp. 13-30.
Ciatto S., Cariaggi P., Bulgaresi P., *Acta Cytol.*, 1987, 31, 301.
Rizzatto G., *La guida ecografica*, in Catania S., Ciatto S., *L'agobiopsia mammaria nella pratica clinica*, 1988, Sorbona, Milano, pp. 97-100.

STEFANO CIATTO

## ESAME CITOLOGICO IN SENOLOGIA

### Materiale di prelievo

L'esame citologico in ambito senologico è una pratica codificata ormai da più di 60 anni e costituisce un presidio diagnostico irrinunciabile. Per la trattazione dell'*istopatologia*, rinviamo alla voce MAMMELLA, IX, 245-263.

L'esame citologico può essere condotto su diversi materiali.

1. *Secrezioni*. – La secrezione mammaria può essere associata a cancro e cellule neoplastiche possono essere rinvenute nel secreto. Di fatto, peraltro, tale evenienza risulta probabile solo quando il secreto abbia caratteristiche emorragiche o sieroematiche. In assenza di alterazioni cliniche e/o mammografiche, la probabilità di identificare un cancro grazie all'esame citologico di secreto non emorragico/sieroematico è irrilevante (Catania e Ciatto, 1988). Per tale motivo l'esame citologico si riserva solo ai casi di secreto ematico. È bene ricordare che anche in presenza di cancro, la citologia risulta poco sensibile (Ciatto *et al.*, 1986) e quindi di fronte a secreto di tipo ematico un esame citologico negativo non conclude l'*iter* diagnostico che deve prevedere per lo meno anche una duttogalattografia.

2. *Liquido cistico*. – L'aspirazione di cisti è pratica frequente a scopo diagnostico e terapeutico, dato che la maggioranza delle cisti aspirate non si riforma (Ciatto *et al.*, 1983). Raramente la cisti può contenere una lesione vegetante a partenza dalla sua parete, che il più delle volte è un innocuo papilloma ma talora può anche essere un cancro. In realtà, quando è presente una vegetazione intracistica, il liquido cistico è pressoché sempre emorragico o sieroematico (Catania e Ciatto, 1988). La citologia può risultare positiva in presenza di un cancro intracistico ma per motivi di probabilità l'esame citologico del liquido cistico viene eseguito solo quando questo è ematico. Anche in questo caso la citologia non conclude l'*iter* che deve prevedere anche una pneumocistografia, o più semplicemente un'ecografia, per verificare l'esistenza della vegetazione. L'ecografia consente anche l'agoaspirato mirato della vegetazione stessa.

3. *Alterazioni eczematose del capezzolo*. – In questi casi la diagnosi differenziale con un carcinoma di Paget può essere difficile: la scarificazione dell'area eczematosa con il bordo del vetrino e la successiva apposizione di materiale cellulare può risultare utile nei casi che evidenzino atipie citologiche (Catania e Ciatto, 1988).

4. *Aspirazione di noduli solidi*. – È certamente il campo di applicazione più utile della citologia.

### Tecnica

Il prelievo può essere condotto con il solo ago (il materiale risale nell'ago per capillarità), o con l'applicazione di una forza aspirante ottenuta con una siringa o un aspiratore automatico o manuale collegato all'ago da un sottile raccordo (fig. 12). Il primo e l'ultimo metodo sono certamente da preferire perché consentono di impugnare direttamente l'ago e di effettuare movimenti più fini e precisi con una chiara sensazione della consistenza della lesione. L'impiego della siringa (o peggio ancora di manopole che, connesse alla siringa, consentono una aspirazione massima) impaccia





Digitized by Google

a

b

c

d

Fig. 12. Tecnica di prelievo con ago sottile: *a*) con ago solo (la lesione è immobilizzata tra l'indice e il medio della mano sinistra); *b*) con siringa (la lesione è presa tra pollice e medio della mano sinistra e sollevata dal piano costale per ridurre il rischio di penetrazione nel torace); *c*) con ago e aspiratore (l'ago è connesso mediante un sottile raccordo all'aspiratore; *d*) aspiratore telecomandato Cytomat® (*Sterylab*).

i movimenti e li rende imprecisi e scattanti, con il rischio di causare un pneumotorace se l'operatore non è esperto e comunque con la perdita della percezione della consistenza della lesione. Il prelievo si ottiene mediante movimenti di andirivieni, rotazione e avvitamento dell'ago nella lesione secondo diverse angolazioni per consentire un prelievo multidirezionale (Catania e Ciatto, 1988).

**Risultati**

Un primo problema è rappresentato dai prelievi inadeguati: questi dipendono in parte dall'inesperienza dell'operatore (Ciatto *et al.*, 1989b) e dalla natura della lesione; il cancro è in genere un buon «donatore» di cellule a differenza delle lesioni benigne a struttura fibrosa: il massimo tasso di prelievi inadeguati accettabile per le neoplasie maligne è del 10% ma l'aspirazione sistematica dei casi in cui il primo prelievo è stato inadeguato consente di ridurre il tasso di inadeguatezza al 2-3% (Ciatto *et al.*, 1989a).

Fig. 14. Sistema Mammotest® (TRC) «dedicato» per prelievo stereotassico.

Fig. 13. Agoaspirazione ecoguidata. *Sopra:* la mano sinistra impugna la sonda e l'ago viene introdotto con una angolazione di circa 45° e perpendicolarmente rispetto al piano di scansione. *A destra:* la scansione inquadra la lesione (cancro non palpabile a limiti netti, scansione di sinistra) e l'ago, progredendo, appare ad un certo punto nella lesione (scansione di destra) garantendo l'esattezza del prelievo.





Digitized by Google

Fig. 15. Accessorio Sterotix® (CGR) per mammografo, per prelievo stereotassico.

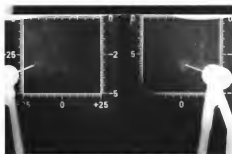



Fig. 16. Controllo della posizione dell'ago (sistema Mammotest®): le due proiezioni oblique (15°) confermano entrambe il corretto posizionamento dell'ago nella lesione sospetta.

La sensibilità e la specificità della citologia variano a seconda dei criteri di valutazione. Se i referti dubbi vengono inclusi come veri positivi, la sensibilità è dell'ordine del 95% e la specificità circa del 98%; se si considerano solo i casi positivi per cellule da carcinoma la sensibilità cala al 90% circa ma la specificità è elevatissima, superiore al 99% (Catania e Ciatto, 1988). Il valore predittivo di un referto dubbio o positivo varia a seconda del citologo ed è buona regola che ogni citologo verifichi la predittività dei propri referti sulla propria casistica clinica. In ogni caso, in mani esperte, la predittività di un positivo citologico è superiore al 99% e quando si associ al sospetto clinico e mammografico (il che avviene per lo meno nell'80% dei cancri) la biopsia estemporanea può essere superflua (Ciatto *et al.*, 1989b).

### Impiego clinico

Di fronte ad un rilevante sospetto clinico e/o mammografico un esame citologico negativo non può negare la necessità di una biopsia, per la possibilità di un falso negativo citologico. Peraltro una citologia negativa può essere di conforto in presenza di anomalie clinico-mammografiche di incerto significato, ma compatibili con una benignità, e l'impiego sistematico della citologia tende a ridurre il numero di biopsie chirurgiche per benignità.

Un referto citologico dubbio o positivo, qualunque sia il rilievo agli altri test, impone una *biopsia chirurgica* per l'elevata predittività della citologia, purché questa sia stata verificata, specie per i referti dubbi (Ciatto *et. al.*, 1989b). Ove si confermi la predittività quasi assoluta di un esame citologico positivo, la biopsia intraoperatoria può essere superflua, specie nei casi nei quali concomiti il sospetto clinico-mammografico.

Non ci devono essere riserve all'impiego della citologia. Un agoaspirato deve essere eseguito in presenza di ogni addensamento asimmetrico o tumefazione che comporti anche il minimo dubbio diagnostico alle altre indagini. In questo modo è possibile che la citologia da sola identifichi un certo numero, se pure limitato, di neoplasie che altrimenti sarebbero sfuggite, in quanto considerate benigne, alle altre indagini.

Quanto sopra vale non solo per le lesioni palpabili ma anche per le lesioni precliniche. Queste ultime possono essere sottoposte ad agoaspirazione su guida ecografica e stereotassica. La prima (fig. 13) è certamente più semplice e veloce e consente il campionamento multidirezionale. Purtroppo, mentre quasi tutte le opacità di massa mammografiche hanno un corrispettivo ecografico, questo non vale per le microcalcificazioni, assai di rado visibili all'ecografia. In questi casi si impiega un sistema stereotassico «dedicato» (fig. 14) o applicato al mammografo (fig. 15) che consente il posizionamento dell'ago nella lesione sospetta (fig. 16). Il prelievo è unidirezionale in quanto l'ago è bloccato dal sistema di puntamento ed è raccomandabile eseguire 2-3 prelievi per limitare gli inadeguati ed eseguire un campionamento multiplo della lesione.

I risultati della citologia ecoguidata o stereotassica su lesioni non palpabili sono gli stessi che per le lesioni palpabili. I vantaggi sono superiori per quanto riguarda il rapporto tra biopsie benigne e maligne: questo, in mancanza di esame citologico, tende ad essere piuttosto elevato (circa 3:1 in letteratura [Ciatto, 1990]) perché la decisione di biopsia si basa solo sulla mammografia che non è molto specifica della diagnosi differenziale di queste lesioni, specie le calcificazioni. L'impiego sistematico della citologia riduce nettamente il rapporto tra biopsie benigne e maligne a circa 0,6-0,9:1 in quanto il radiologo si sente confortato dalla negatività citologica nei casi di modesto dubbio diagnostico che vengono avviati al controllo radiologico anziché alla biopsia.

La citologia è un mezzo diagnostico fondamentale, che deve essere disponibile ovunque si faccia della senologia clinica. Talora si sente raccomandare che debba essere il citopatologo a eseguire il prelievo, a garanzia di migliori risultati. Si tratta di una raccomandazione senza senso, che oltretutto, dato l'esiguo numero di citopatologi, renderebbe il metodo poco diffusibile mentre esso deve essere sempre disponibile in occasione di ogni esame clinico. Vero è che quando si «improvvisa», il prelievo è spesso inadeguato: i risultati dipendono dall'addestramento dell'operatore, non dalla sua specializzazione professionale, ed è sufficiente un breve *training* presso un centro specializzato per acquisire una manualità adeguata nell'esecuzione del prelievo e dello striscio.

V. anche: CITODIAGNOSTICA*, *carcinoma della mammella*, coll. 1663-1664.

#### Bibliografia

Catania S., Ciatto S., *L'agobiopsia mammaria nella pratica clinica*, 1988, Sorbona, Milano.
Ciatto S., *Diagnosi differenziale del cancro non palpabile della mammella*, in Cataliotti L., Ciatto S., Luini A., *Le neoplasie precliniche della mammella*, 1990, Sorbona, Milano, pp. 13-30.
Ciatto S., Rosselli Del Turco M., Cariaggi P., *Senologia*, 1983, **2**, 27-29.





Digitized by Google

Ciatto S., Bravetti P., Cariaggi P., *Acta Cytol.*, 1986, **30**, 17-20.
Ciatto S., Cecchini S., Iossa A. *et al.*, *Tumori*, 1989a, **75**, 280-283.
Ciatto S., Cecchini S., Grazzini G. *et al.*, *Acta Cytol.*, 1989b, **33**, 895-898.

STEFANO CIATTO

## PROTOCOLLO DIAGNOSTICO IN SENOLOGIA

La diagnosi differenziale del cancro della m. non può basarsi sull'esecuzione in tutti i casi di tutti i test disponibili. Ciò aumenterebbe la sensibilità cumulativa ma i costi sarebbero elevatissimi e la specificità cumulativa, sommandosi i falsi positivi delle varie metodiche, inaccettabile. Il protocollo diagnostico in senologia, pertanto, deve identificare di volta in volta la combinazione di test che garantisca un adeguato bilancio tra sensibilità e specificità.

**Protocollo diagnostico in fase asintomatica: indagini di massa dei tumori della mammella**

Lo *screening* (indagine di massa) non è una diagnosi bensì una selezione di soggetti ad elevata probabilità di malattia presente, da sottoporre a successivi accertamenti. Lo *screening* si rivolge a soggetti apparentemente sani e quindi, pur garantendo una sensibilità adeguata, deve essere soprattutto specifico al fine di non avviare troppi soggetti sani alla fase di accertamento.

Gli unici test sperimentati in programmi di *screening* per il cancro mammario sono l'esame clinico e la mammografia. Mentre la mammografia (v.; v.*) è da tutti considerata indispensabile, l'esame clinico è recentemente stato abbandonato in favore della sola mammografia, per la sua scarsa sensibilità per i tumori piccoli (Ciatto, 1988) e per la sua scarsa specificità. Nessun impiego possono trovare come test di *screening* metodiche di scarsa accuratezza quale la termografia (v.) o la diafanoscopia o transilluminazione (v.*), o metodiche «mirate» ad un reperto clinico o mammografico quali l'agoaspirazione o l'ecografia, per definizione test di secondo livello.

I programmi di *screening* che finora hanno fornito una stima di efficacia dimostrano una significativa riduzione di mortalità per cancro mammario nelle donne di 50 e più anni mentre nella fascia d'età inferiore (40-49) la mortalità appare, a seconda dello studio, invariata, lievemente ridotta o addirittura lievemente aumentata ma in ogni caso non in maniera significativa (Ciatto, 1988; Miller, 1988). In base a questa evidenza scientifica, alcuni programmi di *screening* nazionali (Gran Bretagna, Olanda, Svezia) e gran parte degli altri programmi europei invitano le donne di 50 e più anni e impiegano la sola mammografia con ritmo bi-triennale. Analogamente si pronunciano le raccomandazioni della Forza Operativa italiana per il Carcinoma Mammario (FONCaM; 1989) e dell'European Group for Breast Cancer Screening (1987). Circolano purtroppo altre raccomandazioni che suggeriscono l'anticipazione dell'età di *screening* ai 40 anni o l'esecuzione di una mammografia «di base» a 35 anni, raccomandazioni che mancano di ogni fondamento scientifico non essendone stata finora dimostrata l'efficacia. È evidente che per età inferiori ai 50 anni necessitano ancora ulteriori studi controllati prima che sia «lecito» promettere alla popolazione un qualche beneficio e passare alla realizzazione di «servizi» di *screening*.

**Protocollo diagnostico in fase sintomatico-clinica**

Questa attività diagnostica, attualmente ben più diffusa dello *screening*, riguarda i soggetti sintomatici che si presentano spontaneamente al centro senologico, o i soggetti selezionati dal test di *screening* per ulteriori accertamenti.

L'*esame clinico* è la prima indagine da eseguire. La sua sensibilità è ridotta per le neoplasie di limitate dimensioni e comunque nelle donne giovani (Ciatto, 1988) ma in base ad esso è possibile differenziare i soggetti negativi, da avviare semmai allo *screening* in funzione dell'età, dai soggetti con qualche alterazione palpatoria. In questi ultimi l'esame clinico è del tutto affidabile solo in rari casi (fibroadenoma tipico in donna molto giovane [< 25 anni], lipoma, cisti sebacea) ma il più delle volte dà adito a dubbi che richiedono ulteriori accertamenti.

Ogni qual volta sussista un dubbio all'esame clinico è buona regola l'esecuzione di un *esame strumentale*. La scelta si limita in pratica alla mammografia (v.; v.*) o all'ecografia (v. sopra, col. 4801), essendo la termografia (v.) ormai bandita dall'uso diagnostico per la sua accuratezza inaccettabilmente bassa (Ciatto, 1988) e la diafanoscopia (v. TRANSILLUMINAZIONE*) comunque di scarsa utilità.

L'età è il criterio pratico per la scelta della tecnica strumentale: il seno denso giovanile, infatti, crea notevoli problemi diagnostici alla mammografia mentre l'ecografia non ne risente; al contrario i seni adiposi sono di gran lunga meglio esplorabili con la mammografia che con l'ecografia. La scelta di un limite d'età discriminante è ovviamente arbitraria ma necessaria per motivi pratici. La frequenza relativamente bassa di seni densi mal valutabili può suggerire i 40 anni come limite di riferimento. Ove il test diagnostico di scelta non risolva il quesito può essere utile ricorrere all'altro: questo vale sia per l'ecografia in età postmenopausale che per la mammografia in età giovanile (Ciatto, Herd-Smith *et al.*, 1987), sempre che sussista un minimo sospetto di malignità.

Oltre, e in qualche misura al di sopra dei test strumentali, l'esame clinico deve essere integrato dall'*esame citologico* (v. sopra, coll. 4808-4813) che può essere eseguito su diversi materiali:

a) apposizione o scarificazione del capezzolo o di infiltrazione/ulcerazione cutanea. Specie in presenza di quadri simileczematosi del capezzolo, la citologia può agevolare la diagnosi differenziale con il carcinoma di Paget;

b) liquido cistico: l'esame citologico è indicato solo quando il contenuto cistico sia ematico (Catania e Ciatto, 1988) dato che i rarissimi carcinomi intracistici altrimenti occulti si accompagnano pressoché sempre a questa caratteristica. La stessa indicazione vale per la pneumocistografia che fornisce informazioni, quanto alla presenza di vegetazione intracistica, analoghe all'ecografia (Ciatto, 1990);

c) secrezione dal capezzolo: l'esame citologico è indicato quando la secrezione sia ematica o sieroematica. La frequenza di cancro altrimenti occulto in associazione a secrezioni di altro tipo è irrilevante (Catania e Ciatto, 1988), con la sola eccezione della secrezione limpida, monorifiziale e abbondante in donna anziana, peraltro assai rara. La stessa indicazione vale per la duttogalattografia (Ciatto, Bravetti *et al.*, 1988);

d) nodulo solido: è indubbiamente l'evenienza più comune e quella in cui la citologia esplica la sua maggiore utilità diagnostica.

L'*agoaspirazione* viene eseguita con il solo ago (aspirazione per capillarità) o con aspirazione (siringa, aspiratore) (v. sopra col. 4808). Per praticità il prelievo viene eseguito da chi esegue l'esame clinico. Come per tutte le tecniche si richiede un certo addestramento per ottenere prelievi adeguati (non oltre il 5% di inadeguati per le neoplasie, non oltre il 10% per le benignità), ottimizzati dall'esecuzione del prelievo sotto guida ecografica. Non è accettabile la raccomandazione che ad eseguire il prelievo sia lo stesso operatore (citopatologo o patologo) che interpreterà il quadro microscopico. Simili raccomandazioni si ispirano a situazioni del tutto particolari e vanificherebbero ogni possibilità di diffusione del metodo.

La *citologia* è, in mani esperte, metodica molto accurata. La sensibilità è del 90% circa e la specificità superiore al





Digitized by Google

99% (v. anche sopra, *esame citologico in senologia*). Il valore predittivo di un referto citologico positivo per cellule da carcinoma è (e deve essere) quasi assoluto (Ciatto *et al.*, 1989), mentre il valore predittivo di un quadro citologico definito come «sospetto» o «dubbio» varia a seconda degli AA. e va verificato nelle singole esperienze prima di definirne il significato clinico.

Nella pratica clinica è consigliabile l'agoaspirazione di qualsiasi addensamento palpabile la cui natura benigna non sia inequivocabile. L'aspirazione (e l'eventuale esame citologico) è metodica semplice, veloce, perfettamente sopportata dalla paziente, di costo assai inferiore alle altre metodiche e risulta utile in molteplici evenienze:

a) in caso di lesione cistica l'aspirazione consente non solo la diagnosi certa (anche l'ecografia la consente quasi sempre) ma anche la terapia immediata. In presenza di cisti sintomatica la sola diagnosi non soddisfa la paziente, che è ben più rassicurata dalla agocentesi e dalla scomparsa del reperto palpabile;

b) in caso di mastite focale con evoluzione ascessuale l'aspirazione di pus fornisce una diagnosi certa di benignità.

In caso di nodulo solido apparentemente ma non certamente benigno:

c) un referto citologico conclusivo per benignità conferma il quadro clinico o clinico/strumentale e permette di evitare una biopsia chirurgica inutile. Nella normale pratica clinica le biopsie per benignità dovrebbero essere meno frequenti delle biopsie per cancro. Le biopsie inutili comportano costi economici, psicologici e diagnostici (deformazioni e distorsioni ai successivi controlli clinici e mammografici) tutt'altro che trascurabili;

d) un referto citologico anormale (dubbio, sospetto o positivo), per il suo valore predittivo comunque elevato, giustifica una biopsia chirurgica. Circa il 3-4% di tutti i cancri palpabili vengono di fatto avviati alla biopsia solo per un sospetto citologico (Ciatto *et al.*, 1989), mentre in caso di forte sospetto clinico (e il più delle volte anche ecografico o mammografico) si impone la biopsia chirurgica;

e) un referto citologico positivo, per la sua elevatissima predittività, pressoché assoluta quando associato a forte sospetto posto da altre metodiche, consente di soprassedere alla biopsia estemporanea e di adire direttamente all'intervento terapeutico. Questo avviene per lo meno nell'80% dei cancri diagnosticati nella normale pratica clinica, che risultano positivi sia alla clinica, che alla mammografia che alla citologia.

Indubbiamente la citologia ha i suoi limiti, in particolare:

a) non si deve dare eccessivo valore ad una citologia negativa quando esista sospetto posto da altre metodiche: i falsi negativi della citologia sono il 10% circa ed un referto citologico negativo non potrà mai negare una biopsia suggerita in base ad altra indagine;

b) il peso da dare ai diversi gradi di sospetto citologico non deve essere mutuato dalla letteratura ma verificato nella esperienza diretta. Prima di soprassedere ad una biopsia estemporanea la predittività di un referto positivo citologico superiore al 99% dovrà essere verificata su una casistica adeguata.

Parimenti l'opportunità di una *biopsia chirurgica* (per l'esame anatomopatologico e istopatologico, v. MAMMELLA, IX, 245-263) in caso di dubbio citologico anche modesto, indipendentemente da altra evidenza, dovrà essere validata su una casistica adeguata, per evitare un eccesso di biopsie inutili, quale si avrebbe nel caso di un impiego esteso della citologia interpretata da un citologo troppo poco «specifico», che formuli cioè sospetti troppo facilmente.

Le affermazioni fatte per la citologia su noduli palpabili valgono anche per quella su noduli non palpabili, sempre più frequenti data la diffusione della mammografia, aspirati su guida ecografica o con sistema stereotassico (v. sopra, col. 4812). Queste due tecniche, alla pari della citologia «a mano libera», dovrebbero essere sempre disponibili anche se i sistemi stereotassici, per costi e minor frequenza di impiego, necessitano di centralizzazione (Ciatto, Rosselli Del Turco, Bravetti, 1989).

**Conclusioni**

Riassumendo, la scelta dei vari test deve seguire un *iter* graduale che si interrompe non appena acquisita la certezza di natura benigna o maligna. Lo schema più ragionevole di protocollo diagnostico è riassunto nella fig. 17:

a) l'esame clinico negativo o certamente benigno (lipoma, cisti sebacea, etc.) non richiede ulteriori indagini se non la mammografia, con logica di *screening*, dai 50 anni in poi;

b) l'evidenza clinica di benignità incerta impone l'agoaspirazione: 1) in caso di cisti l'*iter* è concluso (salvo i rari casi di cisti emorragica che vengono approfonditi con citologia del liquido cistico, ecografia o pneumocistografia); 2) in caso di nodulo solido l'*iter* prevede l'esecuzione della citologia e di ecografia o mammografia (a seconda dell'età o entrambe nei casi in cui il dubbio persista). Se anche ad una sola delle tre metodiche sussiste un sospetto di malignità, la biopsia chirurgica è doverosa;

c) il forte sospetto di malignità all'esame clinico è di per sé sufficiente ad indicare la biopsia chirurgica. Sono rarissimi i casi nei quali un altro accertamento possa negarne l'opportunità (fibroadenoma calcifico alla mammografia, ascesso con aspirazione di pus) ma la citologia e la mammografia sono consigliabili non tanto sul piano diagnostico quanto perché esse risultano utili, la prima per poter eventualmente soprassedere all'esame bioptico estemporaneo, la seconda per definire la presenza di cancro occulto omolaterale multifocale o controlaterale.

**Bibliografia**

Catania S., Ciatto S., *Strumentario e tecnica di esecuzione*, in Catania S., Ciatto S. eds., *L'agobiopsia mammaria nella pratica clinica*, 1988, Sorbona, Milano, pp. 15-60.

Ciatto S., *Diagnosi del carcinoma della mammella*, in Veronesi U. ed., *Carcinoma della mammella*, 1988, Sorbona, Milano, pp. 161-180.

Ciatto S., *L'esame citologico del liquido cistico nella diagnosi di carcinoma mammario*, in Catania S., Ciatto S. eds., *L'agobiopsia mammaria nella pratica clinica*, 1988, Sorbona, Milano, pp. 83-86.

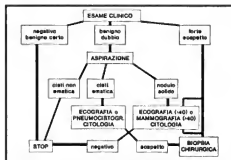



Fig. 17. Schema grafico di protocollo diagnostico in senologia.




Digitized by Google

Ciatto S., *L'esame citologico del secreto mammario nella diagnosi di carcinoma mammario*, in Catania S., Ciatto S. eds., *L'agobiopsia mammaria nella pratica clinica*, 1988, Sorbona, Milano, pp. 87-90.
Ciatto S., *Diagnosi differenziale del cancro non palpabile della mammella*, in Catalioiti L., Ciatto S., Luini A., *Le neoplasie precliniche della mammella*, 1990, Sorbona, Milano, pp. 13-30.
Ciatto S., Herd-Smith A., Di Maggio C. *et al.*, *Tumori*, 1987, **73**, 457-461.
Ciatto S., Bravetti P., Berni D. *et al.*, *Tumori*, 1988, **74**, 177-181.
Ciatto S., Cecchini S., Grazzini G. *et al.*, *Acta Cytol.*, 1989, **33**, 894-898.
Ciatto S., Cecchini S., Iossa A. *et al.*, *Tumori*, 1989, **75**, 280-283.
Ciatto S., Rosselli Del Turco M., Bravetti P., *Radiology*, 1989, **173**, 57-59.
European Group for Breast Cancer Screening, *Guidelines for breast cancer screening*, *Clinical Radiology*, 1987, **38**, 217.
Forza Operativa Nazionale sul Carcinoma Mammario (FONCaM), *I tumori della mammella. Protocollo di diagnosi, trattamento, riabilitazione e cure palliative*, 1989, Milano.
Miller A. B., *Programmi di screening di massa per il carcinoma mammario*, in Veronesi U. ed., *Carcinoma della mammella*, 1988, Sorbona, Milano, pp. 145-160.

STEFANO CIATTO

## CHIRURGIA

### Nuova stadiazione

Il crescente interesse per la chirurgia conservativa è principalmente il risultato della modificazione della popolazione delle pazienti osservate negli ultimi 15 anni. Infatti, l'introduzione della mammografia e di intensi programmi educativi ha condotto ad uno spettacolare incremento dei carcinomi della m. di limitate dimensioni, e in molti Istituti dei paesi occidentali più del 50% delle pazienti operabili ha ormai all'esame istologico un carcinoma di dimensioni inferiori ai 2 centimetri.

Questa mutata realtà nel campo dei tumori della m. ha influenzato anche il lavoro degli esperti dell'Unione Internazionale Contro il Cancro (UICC) che nel 1987 hanno provveduto alla stesura di una nuova edizione della classificazione secondo il sistema TNM: le grosse neoplasie ulcerate e sanguinanti descritte nei trattati di medicina fino a pochi decenni fa sono ormai sempre più rare, così come i tumori che arrivano a infiltrare le strutture muscolari sottostanti. La nuova classificazione quindi si preoccupa piuttosto di definire meglio le situazioni cliniche iniziali e di fornire più dettagliate informazioni sulle caratteristiche biologiche della neoplasia (tab. I).

**TAB. I. NUOVA CLASSIFICAZIONE TNM (1987)** (UICC, 1987)

**Classificazione TNM clinica**

a) T (tumore primario):
- T1: tumore < 2 cm di diametro. Il T1 prevede 3 sottogruppi:
  - T1a: < 0,5 cm.
  - T1b: 0,5 cm < T < 1 cm;
  - T1c: 1 cm < T < 2 cm;
- T2: 2 cm < T < 5 cm;
- T3: > 5 cm;
- T4: tumore di ogni dimensione con estensione alla parete toracica o alla cute. Il T4 prevede 4 sottogruppi:
  - T4a: estensione alla parete toracica;
  - T4b: estensione alla cute;
  - T4c: estensione alla parete toracica e alla cute;
  - T4d: carcinoma infiammatorio (indurimento diffuso, brunastro della cute con margini erisipeloidi, in genere senza massa palpabile sottostante).

b) N [linfonodi regionali: linfonodi interpettorali (linfonodi di Rotter) e ascellari (suddivisi in linfonodi di I livello: laterali al bordo laterale del piccolo pettorale; di II livello: tra il margine laterale e quello mediale del piccolo pettorale, compresi i linfonodi di Rotter; di III livello o apicali, mediali al margine del piccolo pettorale, inclusi i sottoclaveari); linfonodi mammari interni ipsilaterali. I linfonodi sovraclaveari sono classificati come M1]:
- N0: non metastasi linfonodali;
- N1: metastasi ascellari mobili;
- N2: metastasi ascellari fisse le une alle altre o alle strutture adiacenti;
- N3: metastasi ai linfonodi mammari interni.

c) M (metastasi a distanza):
- M0: non metastasi a distanza;
- M1: metastasi a distanza compresi i linfonodi sovraclaveari.

### Biopsia chirurgica

In caso di sospetta o clinicamente *evidente neoplasia* mammaria, la biopsia deve essere una procedura chirurgica del tutto distinta dal procedimento definitivo. Per l'incisione e la sutura occorre usare tavolo e strumenti separati per evitare di contaminare il campo operatorio con cellule tumorali per disseminazione.

Le regole da seguire sono le seguenti: exeresi per escissione della neoplasia, emostasi accurata, lavaggio con liquido oncolitico, chiusura ermetica della cute.

Nella maggior parte dei casi l'aspetto macroscopico e la consistenza della superficie di taglio del tumore consentono ad un chirurgo esperto di porre diagnosi di neoplasia maligna. È comunque indispensabile avere anche il conforto dell'esame istologico al congelatore. Nel caso vi siano dubbi anche remoti da parte del patologo occorre attendere l'esame definitivo del preparato incluso (per l'esame istopatologico, v. MAMMELLA, IX, 245-263).

In qualche caso la mammografia può evidenziare un'area sospetta in una zona della m. dove non vi è nulla di clinicamente palpabile: si tratta cioè di eseguire la biopsia di una *lesione subclinica*. Il reperto radiologico più frequente è la presenza di un nucleo di microcalcificazioni, la cui localizzazione chirurgica presenta una certa difficoltà in quanto la m. subisce degli spostamenti per la compressione esercitata sul parenchima durante la mammografia e in un secondo tempo quando la paziente viene adagiata sul tavolo operatorio.

È pertanto indispensabile procedere, prima dell'intervento, ad una centratura della zona in sala radiologica, usando come repere un filo metallico, con l'estremità curvata ad uncino, contenuto in un ago sottile di 9 cm di lunghezza.

Previa anestesia cutanea, l'ago viene introdotto nella m. approssimativamente nella zona interessata; se ne controlla la posizione con due proiezioni mammografiche per effettuare le eventuali correzioni. Quando la punta dell'ago è prossima all'area sospetta, si estrae l'ago *lasciando in situ il repere metallico*.

La guida del repere consente di raggiungere con sicurezza l'area sospetta che può essere asportata completamente limitando l'exeresi, senza eccessivi danni estetici, dal momento che almeno la metà di queste lesioni non sono maligne.

Un altro metodo di localizzazione delle lesioni occulte è di usare un *colorante* o del *carbone colloidale* iniettato in prossimità dell'area sospetta, sotto controllo mammografico.

Effettuata la biopsia, il pezzo operatorio viene inviato in radiologia per controllare se la zona sospetta è stata completamente asportata (la radiografia del pezzo è indispensabile quando si tratta di microcalcificazioni) e successivamente in patologia per l'esame istologico estemporaneo (se



Digitized by Google

possibile) o per quello definitivo. (La trattazione dell'esame citologico è svolta sopra, coll. 4808-4809).

### Tumorectomia

Negli ultimi anni si è discretamente diffusa la tecnica della semplice resezione parziale della m. contenente il carcinoma, definita anche «tumorectomia», «nodulectomia», «mastectomia segmentale», «tilectomia», etc. Queste definizioni sono tutte improprie e vaghe. Si tratta di un intervento di chirurgia riduttiva senza scopi di radicalità, sostanzialmente simile ad una biopsia per escissione, che serve soprattutto a preparare la m. ad un adeguato trattamento radioterapico, che può essere attuato solo dall'esterno con alte energie o potenziato dall'introduzione per via interstiziale di fili di materiale radioattivo, in genere iridio-198. Laddove vi è disponibilità di un centro di radioterapia altamente qualificato, questo tipo di intervento sembra praticabile, anche se casistiche osservate per lungo tempo non sono disponibili.

### Mastectomia sottocutanea

Consiste nella completa asportazione della ghiandola *con conservazione della cute*, indicata soltanto in forme a significato *precanceroso* (papillomatosi intraduttale diffusa, gravi displasie atipiche plurifocali, carcinoma *in situ*: v. MAMMELLA, IX, 290). La sua scarsa diffusione è dovuta al fatto che, per quanto accurato sia l'intervento, è impossibile asportare tutto il tessuto ghiandolare, residui del quale rimangono sempre alla periferia o verso l'ascella.

L'incisione cutanea può essere effettuata o nel solco mammario o trasversalmente all'equatore della m. I lembi cutanei non devono essere troppo sottili, per il rischio di necrosi, né troppo spessi, per non lasciare residui ghiandolari. La massima attenzione occorre quando si libera il solco mammario, il quadrante superointerno e il prolungamento ascellare. Il piano inferiore è il distacco della ghiandola dalla fascia superficiale del pettorale.

La reintegrazione volumetrica è ottenuta con protesi in silicone, e può essere effettuata immediatamente, se il mantello cutaneo non corre il rischio di necrosi per eccessivo assottigliamento, oppure in un secondo tempo. La protesi può essere sistemata al di sopra o al di sotto del muscolo grande pettorale, ad ottimo effetto protettivo; in quest'ultimo caso si procederà ad uno scollamento manuale dalla parete toracica e dal piccolo pettorale (fig. 18). L'intervento terminerà con chiusura dell'eventuale tasca muscolare, drenaggio, sutura e medicazione immobilizzante e compressiva. Se necessario, si procederà ad una mastoplastica riduttiva della m. controlaterale.

### Quadrantectomia

L'Istituto Nazionale Tumori di Milano ha tra i primi condotto uno studio su di una tecnica particolare di chirurgia conservativa del carcinoma mammario: esso ha avuto inizio nel 1973 e il reclutamento delle pazienti è terminato all'inizio del 1980 (Veronesi *et al.*, 1981). Complessivamente 701 pazienti furono ammesse allo studio clinico controllato, 348 delle quali furono trattate con mastectomia secondo Halsted e 352 con metodo conservativo. Il trattamento conservativo consisteva nella quadrantectomia, più dissezione

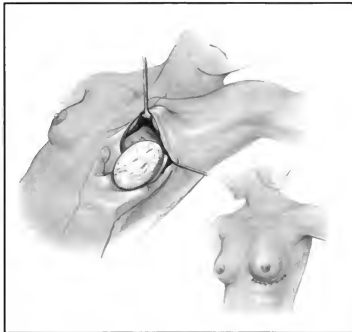



Fig. 18. Ricostruzione dopo mastectomia sottocutanea. Attraverso la stessa incisione sottomammaria usata per la demolizione, viene creata una tasca subpettorale in cui trova alloggio una protesi in gel di silicone.





Digitized by Google

Fig. 19. *A*) Disegno schematico della quadrantectomia con dissezione ascellare in blocco, per carcinoma T1 nel quadrante superoesterno. *B*) Disegno schematico della quadrantectomia con dissezione ascellare (in discontinuità) per carcinoma del quadrante inferoesterno. *C*) Radioterapia del tessuto residuo: a), c) due campi tangenziali per un totale di 5000 rad con $^{60}Co$; b) sovradose di 1000 rad con roentgenterapia.

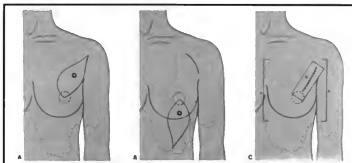
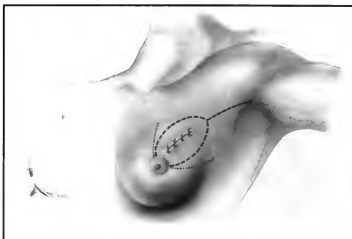



Fig. 20. Quadrantectomia. L'incisione cutanea a losanga deve cadere a non meno di 2,5 cm dall'incisione della biopsia, e, se il tumore è localizzato al quadrante superoesterno, deve essere prolungata fino all'ascella per effettuare in blocco la linfonodectomia ascellare.

ascellare e radioterapia su tessuto mammario residuo. Dal 1976, in entrambi i gruppi, fu somministrata chemioterapia aggiuntiva con CMF per un anno, nel caso di linfonodi ascellari positivi. Il reclutamento fu limitato alle pazienti T1N0 (meno di 2 cm e linfonodi ascellari non palpabili). La procedura QU.A.RT. (quadrantectomia, dissezione ascellare, radioterapia) consiste nella rimozione chirurgica di un intero quadrante della m. con la cute sovrastante e la sottostante fascia pettorale, cosicché il tumore primario viene rimosso con una porzione piuttosto estesa di tessuto mammario nelle tre dimensioni. *La dissezione ascellare può essere eseguita in continuità*, quando il carcinoma è localizzato nel quadrante superoesterno, o *in discontinuità*, con una incisione separata, in tutti gli altri casi. La radioterapia sul tessuto mammario residuo è somministrata ad una dose di *5000 rad*, secondo due campi tangenziali opposti, con fotoni ad alta energia e con un *sovradosaggio di 1000 rad addizionali sulla cicatrice*, con radioterapia ad ortovoltaggio (fig. 19). I risultati aggiornati mostrano che la sopravvivenza senza recidiva e la sopravvivenza globale non sono differenti nei due gruppi di pazienti. I risultati a lungo termine hanno portato alla conclusione che *la mastectomia*

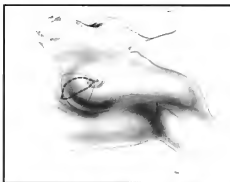



Fig. 21. Quadrantectomia. Neoplasia dei quadranti inferiori: linee di incisione della cute e della ghiandola mammaria.





Digitized by Google

Fig. 22. Quadrantectomia. Evidenziato il quadrante di ghiandola mammaria lo si incide con il bisturi, verticalmente fino alla fascia del muscolo grande pettorale.

*secondo Halsted comporta una mutilazione inutile in pazienti con carcinoma della m. inferiore ai 2 cm di diametro.*

Attualmente la quadrantectomia viene indicata per neoplasie con dimensioni massime attorno ai 2-3 cm. Se la m. è molto voluminosa questo limite può anche essere superato.

*Tecnica*

Se si dispone di un esame citologico positivo per carcinoma e questo si accompagna a segni clinici o mammografici si-

Fig. 23. Quadrantectomia. Dissezione ascellare. Sollevato il muscolo grande pettorale, si incide la parte laterale del legamento clavi-coraco-pettorale lungo il bordo del muscolo coraco-brachiale, liberando così il muscolo piccolo pettorale, che viene sollevato con un dito.





Digitized by Google

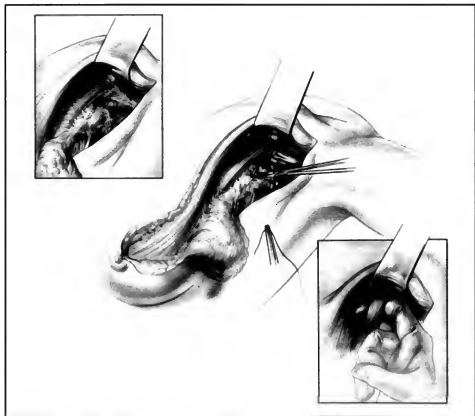



Fig. 24. Quadrantectomia. Dissezione ascellare. Raggiunto l'apice dell'ascella si libera la vena ascellare nel punto in cui passa sotto il muscolo succlavio e si legano i collaterali venosi e arteriosi dei vasi ascellari.

gnificativi, la biopsia intraoperatoria può essere evitata e la quadrantectomia può essere eseguita direttamente. In questo caso si ha il vantaggio di un intervento più semplice, in cui il quadrante da asportare non è alterato dalla biopsia escissionale.

L'incisione cutanea a losanga, comprendente uno spicchio di areola, con direzione radiale verso il capezzolo, deve cadere a non meno di 2,5 cm dall'incisione della biopsia. Nel caso di tumore localizzato al quadrante supero-esterno l'angolo superiore dell'incisione deve essere prolungato fino all'ascella per effettuare in blocco la linfonodectomia ascellare (fig. 20). Nel caso invece il tumore sia localizzato negli altri quadranti, si effettuerà un'incisione separata per la dissezione ascellare (fig. 21).

Incisa la cute si preparano i due lembi in modo da poter asportare circa un quarto di ghiandola mammaria con il bisturi diretto verticalmente fino alla fascia del muscolo grande pettorale (fig. 22).

Si procede quindi alla linfonodectomia ascellare. Divaricato il grande pettorale, s'incide la parte laterale del legamento clavi-coraco-pettorale per liberare il muscolo piccolo pettorale, che viene sollevato con un dito e inciso (fig. 23); in tal modo si raggiunge l'apice dell'ascella, si libera la vena ascellare e si legano i collaterali venosi e arteriosi dei vasi ascellari per distaccare con essi il tessuto adiposo-linfatico (fig. 24). Il piccolo pettorale viene sezionato a livello delle sue inserzioni costali e il pezzo operatorio staccato dalle connessioni con i muscoli dentati. Per agevolare l'anatomopatologo nell'orientamento del pacchetto linfonodale è opportuno porre un punto di repere in corrispondenza dell'apice ascellare.

Una variante sempre più diffusa contempla la conservazione del piccolo pettorale, che viene opportunamente divaricato per praticare la dissezione ascellare (fig. 25).

Nel caso l'intervento sia fatto con due incisioni separate, nella sede del nodulo per la quadrantectomia e all'ascella per la linfonodectomia, i risultati estetici sono anche superiori e poiché i principi teorici per l'intervento in blocco sono ormai tramontati, l'impiego delle due incisioni separate è sempre più diffuso.

Il cavo ascellare e la m. sono drenati in aspirazione continua. La ricostruzione inizia dai piani profondi, con qualche robusto punto di catgut per avvicinare gli elementi ghiandolari e ristabilire la rotondità mammaria. Si procederà poi all'accurata sutura del sottocute, con punti staccati in catgut, e della cute, con sottili punti staccati in seta

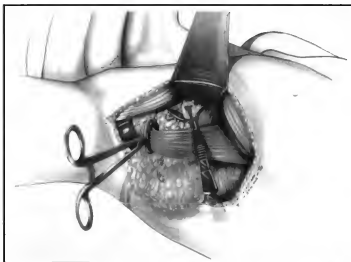



Fig. 25. Quadrantectomia. Dissezione ascellare. Isolato il muscolo piccolo pettorale (che viene conservato), lo si separa dal tessuto celluloadiposo sottostante completando la dissezione linfonodale fino all'apice dell'ascella. L'insieme del tessuto adiposo viene fatto scivolare al di sotto del muscolo piccolo pettorale.





Digitized by Google

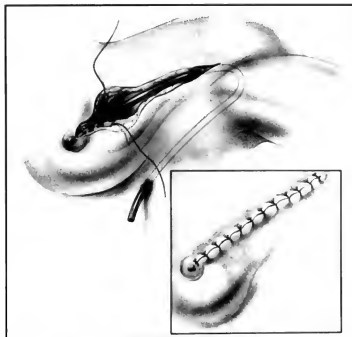



Fig. 26. Quadrantectomia. La ricostruzione della ghiandola mammaria viene effettuata con punti staccati in catgut e la cute in punti staccati in lino o seta. Cavo ascellare e mammella sono drenati in aspirazione continua.

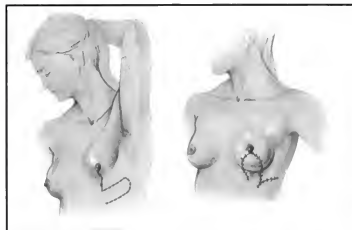



Fig. 27. Esito di quadrantectomia. Particolari della ricostruzione. Un lembo toraco-epigastrico a peduncolo mediale viene scolpito e ruotato superiormente a ricostruzione dei quadranti inferiori della m. La reintegrazione volumetrica è affidata all'inserzione di una protesi in gel di silicone di volume ridotto.

(fig. 26) coadiuvati da moderni accorgimenti tipo l'uso di *steri-strip* e di collante biologico; nei casi di demolizione ampia, anche a seconda delle dimensioni del seno, si potrà ricorrere ad un apporto cutaneo e sottocutaneo a lembo di rotazione toraco-epigastrico per i quadranti inferiori (fig. 27). Un'altra possibilità è data dall'integrazione volumetrica con inserzione di protesi in gel di silicone di volume ridotto.





Digitized by Google

**Mastectomie totali**

*Tecniche*

Per mastectomia *totale* s'intende l'asportazione dell'intera m. (cute e ghiandola). Vi si distinguono varie forme demolitive, a seconda delle indicazioni fornite dalla biopsia:

a) mastectomia *semplice*, senza dissezione linfonodale ascellare per: carcinoma duttale non invasivo, o carcinoma intraduttale superiore ai 2 cm o multifocale (se l'esame estemporaneo non è in grado di stabilirne l'invasività, è preferibile rinviare l'intervento in attesa dell'esame istologico definitivo); sarcomi (che non diffondono mai per via linfatica); carcinomi invasivi in donne anziane o defedate. Può esservi un'indicazione di necessità, quando vi sia una forma neoplastica ulcerata, necrotica o infetta;

b) mastectomia *totale* con dissezione dei linfonodi ascellari, ma con conservazione del muscolo grande pettorale: si tratta dell'intervento già descritto da *Patey*, ma con dissezione linfonodale ascellare completa fino al 3° livello all'apice dell'ascella. La conservazione del grande pettorale consente un risultato estetico nettamente superiore a quello della mastectomia di Halsted e nello stesso tempo soddisfa il criterio di radicalità. Oggi molti si orientano verso la conservazione anche del piccolo pettorale ove possibile. Candidati sono tutti i carcinomi che superino i criteri di una quadrantectomia (T1N0), ma con esclusione dei casi con aderenza profonda alla fascia pettorale superficiale o con presenza di voluminose e numerose metastasi ascellari;

c) mastectomia *di Halsted*, attualmente limitata ai casi in cui il tumore sia aderente alla fascia superficiale del mu-

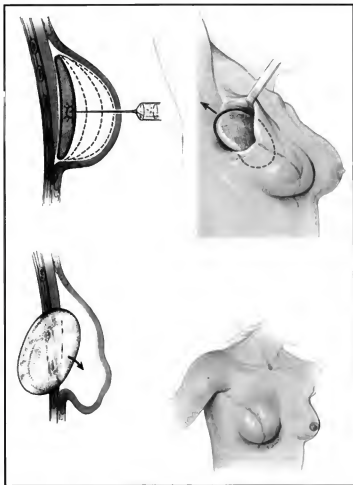



Fig. 28. Tecnica di ricostruzione con *expander* mammario. L'*expander* a valvola centrale, in situazione sottocutanea, viene progressivamente rifornito per via percutanea. L'*expander* viene successivamente asportato e sostituito da una protesi in gel definitiva.





Digitized by Google

scolo grande pettorale o in cui la presenza di voluminose metastasi ascellari consigli il sacrificio del grande pettorale;

d) mastectomia *allargata*, con svuotamento oltre che ascellare anche mammario interno, per tumori oltre i 5 cm di diametro e con metastasi ascellari, oggi abbandonata. Altrettanto dicasi della mastectomia con dissezione sopraclavicolare e mediastinica.

La tecnica demolitiva della mastectomia totale è quella già descritta nella voce MAMMELLA, IX, 284-287. La tecnica ricostruttiva ha avuto una notevole evoluzione.

*Ricostruzione dopo mastectomia totale*

In linea generale, l'apporto ricostruttivo considera i quattro costituenti fondamentali asportati: cute, strato muscolare, ghiandola mammaria, areola e capezzolo.

La ricostruzione del seno viene di solito programmata ad una certa distanza di tempo dalla mastectomia, dopo eventuali terapie oncologiche complementari e dopo che le cicatrici cutanee si sono stabilizzate.

L'*inserzione semplice di una protesi* per ripristinare il volume mammario, senza apporto di tessuto di rivestimento o da altra sede, è indicata quando la cute rimasta sia sufficientemente distensibile e di buona qualità, il muscolo pettorale sia presente e non atrofico, condizioni di facile reperimento dopo una mastectomia radicale modificata secondo Patey. Il seno controlaterale deve essere di dimensioni ridotte o riducibili con un intervento di correzione. Se il rivestimento muscolo-cutaneo esistente è in buone condizioni, è possibile l'inserimento di protesi fino a 300 cm$^3$, la media essendo rappresentata da 200 cm$^3$ circa.

Per i casi rappresentati da m. di un certo volume, sono state messe a punto negli ultimi anni protesi particolari di notevoli dimensioni (400-700 cm$^3$ di capacità) da inserire in situazione sottocutanea o sottomuscolare.

Queste protesi hanno la *possibilità di essere rifornite progressivamente per via percutanea* attraverso una valvola centrale o laterale, in modo da distendere progressivamente i tessuti sovrastanti.

Ottenuto con rifornimenti settimanali il volume massimo previsto dell'*expander*, questo viene asportato durante un secondo intervento chirurgico e sostituito con una protesi in silicone definitiva, del volume richiesto, in genere molto inferiore a quello dell'espansore.

Il rifornimento settimanale dell'espansore avviene con una siringa da 20 cc: dopo accurata disinfezione cutanea, si inserisce l'ago nella valvola tenuta ben ferma tra due dita. Se si osserva cianosi o arrossamento della cute, il rifornimento deve essere rallentato, o addirittura il contenuto dell'*expander* deve essere temporaneamente diminuito (fig. 28).

In alternativa a queste, Becker ha messo a punto delle protesi costituite da *uno strato esterno in gel di silicone mentre la parte interna è espandibile con soluzione fisiologica*. Terminata la fase di espansione, queste protesi vengono lasciate in sede, limitandosi all'asportazione dell'apparato di rifornimento costituito dalla valvola e da un tubicino. L'utilizzo delle protesi di Becker consente di evitare l'intervento successivo di sostituzione della protesi espansa con quella definitiva.

Quando esiste la necessità di un'integrazione cutanea e muscolare, la tecnica di prima scelta è quella che prevede la *rotazione del muscolo grande dorsale*. Le limitazioni all'uso di questa tecnica sono rappresentate dalla maggior lunghezza e indaginosità di questo intervento rispetto ad altre

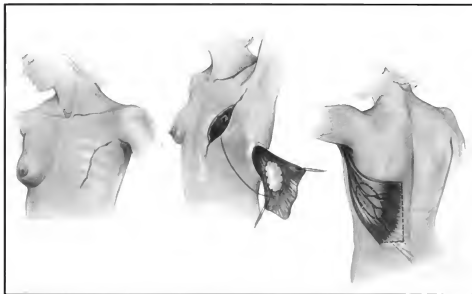



Fig. 29. Ricostruzione con lembo miocutaneo di muscolo *latissimus dorsi*. Il muscolo grande dorsale viene isolato dalle sue origini dorsali e, insieme all'isola cutanea scolpita, trasferito in regione mammaria attraverso un tunnel sottocutaneo.



Digitized by Google

Fig. 30. Ricostruzione con lembo miocutaneo di muscolo *latissimus dorsi*. L'isola cutanea trasferita può essere inserita nella precedente cicatrice da mastectomia oppure trasversalmente a ricostruzione dei quadranti inferiori e del solco sottomammario.

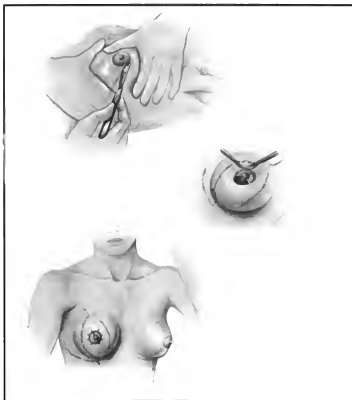
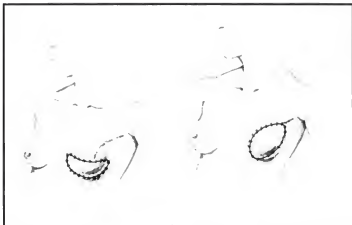



Fig. 31. Ricostruzione della areola e del capezzolo. Si preleva dall'areola controlaterale una striscia concentrica e dal capezzolo un cuneo di dimensioni adatte, che vengono trasferiti sul sito ricevente, previamente disepitelizzato.



Digitized by Google

procedure più semplici, e dall'aggiunta di una cicatrice al dorso, che risulta inoltre nella metà interessata un poco incavato. L'isola di cute trasferita è di colore diverso da quello dell'area in cui si viene a trovare, e rimane circondata da cicatrice. D'altra parte il trasferimento del grande dorsale, con perdita completa della sua funzione, non causa apprezzabili limitazioni funzionali.

Il peduncolo vascolare principale, la cui conservazione è alla base dell'intervento di rotazione del muscolo dorsale, è rappresentato dall'arteria toracodorsale. Si trasferisce una isola cutanea di varia foggia e dimensioni insieme al muscolo. Il distacco del muscolo viene eseguito sezionando le sue inserzioni alla colonna e alla cresta iliaca (fig. 29).

Viene riaperta la cicatrice della mastectomia e creato un tunnel sottocutaneo, in cui passa l'unità muscolocutanea isolata. Si procede al sollevamento della cute sino alla regione sternale, alla clavicola e inferiormente fino al solco sottomammario e il muscolo grande dorsale viene suturato ai margini di questo scollamento.

Dopo inserzione di una protesi al silicone di misura adatta, la tasca viene delimitata lateralmente da punti per evitare che la protesi scivoli verso il dorso. Si pone un drenaggio in aspirazione. Le suture cutanee intorno alla isola trasferita completano l'intervento (fig. 30).

L'alternativa al lembo miocutaneo di grande dorsale è il *lembo miocutaneo di retto addominale*, che permette di trasportare in regione pettorale una cospicua porzione di cute e tessuto adiposo sottombelicale, mediante le connessioni vascolari del muscolo retto. Il trasferimento di questo lembo è, dal punto di vista chirurgico, più indaginoso e sono possibili laparoceli postoperatori per la mancanza di uno dei muscoli retti nei quadranti inferiori dell'addome.

La *ricostruzione dell'areola* e del *capezzolo*, naturale completamento di quella della m., può essere immediata, durante il primo intervento ricostruttivo, o secondaria. Maggiore simmetria è possibile nel caso di ricostruzione dilazionata. Le tecniche più affidabili sono le seguenti.

*Innesto dell'areola controlaterale.* – Si determina il diametro e la sede dell'areola da ricostruire e si disepitelizza la superficie disegnata. Viene prelevata dall'areola controlaterale una striscia concentrica e dal capezzolo un cuneo di dimensioni adatte. Questi prelievi vengono innestati sul letto preparato, fissati con punti di sutura, le cui code, lasciate lunghe 5-6 cm, vengono annodate tra loro sopra un bolo di grasso, che serve da compressione per qualche giorno (fig. 31).

*Modellamento del capezzolo con lembi locali.* – In mancanza di un capezzolo controlaterale di dimensioni generose, o quando la paziente rifiuti una procedura chirurgica che interessi l'altro capezzolo, questo può essere ricostruito rifacendone la salienza con il modellamento della cute della regione mammaria. Viene sollevato attorno ad un'area centrale un lembo dermoepidermico che è suturato, dopo asportazione di qualche spicchio, a formare un colletto. Il colorito della neo-areola viene ottenuto mediante tatuaggio.

*Innesto di cute dal solco inguinale.* – Con l'apposito bisturi cilindrico (si usa di solito quello di diametro 3,8-4 cm), si delimita lateralmente alle grandi labbra un'area cutanea che viene prelevata come innesto di cute a tutto spessore; trasferita sull'area opportunamente disepitelizzata e modellata attorno al capezzolo ricostruito, viene suturata a compressione con il solito sistema. L'innesto di cute dalla sede descritta è di colore adatto nel caso di areola controlaterale piuttosto scura.

**Bibliografia**


Baum M., *Lancet*, 1985, **1**, 836.

Bonadonna G., Valagussa P., Rossi A. *et al.*, *Adjuvant Chemotherapy of Breast Cancer: the Milan Cancer Institute Trials*, in *Gynecology and Obstetrics*, 1986, Springer, Berlin, pp. 599-600.

Bonadonna G., Robustelli della Cuna G., *Manuale di oncologia medica*, 1991, 4 ed., Masson Italia, Milano.

Cohen L. A., *Sci. Am.*, 1987, **257**, 42.

Costa A., Pizzichetta M., Andreoli C., *Argom. Oncol.*, 1986, **7**, 91.

Curtarelli G., Scanni A., *Argom. Oncol.*, 1980, **1**, 47.

Cuzik J., *The Prevention of Breast Cancer, First Int. Symposium on the Prevention of Breast Cancer*, St. George's Hospital, London, March 1987.

FONCaM, *Protocollo di Trattamento*, Milano, Settembre 1985.

Grisotti A., *Ricostruzioni plastiche in oncologia chirurgica*, in *Manuale di oncologia chirurgica*, 1988, 2 ed., Masson Italia, Milano, pp. 271-286.

Silvestrini R., Daidone M. G., Di Fronzo G., *Cancer*, 1979, **44**, 665.

Tabar L., Fagerberg C. J. G., Gad A. *et al.*, *Lancet*, 1985, **1**, 829.

UICC, in Hermanek, Sobin eds., *TNM Classification of Malignant Tumors*, IV Revision, 1987, Springer, Berlin.

Veronesi U. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1981, **305**, 6.

Veronesi U., Costa A., *Fed. Med.*, 1986, **39**, 899.

Veronesi U., *Terapia conservativa nel carcinoma della mammella*, in *Neoplasie ginecologiche*, 1987, Ambrosiana, Milano, pp. 349-357.

Veronesi U., *Trattato di chirurgia oncologica*, 1989, UTET, Torino.


UMBERTO VERONESI E ALBERTO COSTA

## TERAPIA MEDICA

Nelle ultime due decadi la terapia medica (cheminterapia, endocrinoterapia) del carcinoma della m. è divenuta più efficace, in seguito all'introduzione di nuovi farmaci e al loro impiego strategico nelle fasi operabili della neoplasia. Il progresso nel settore del trattamento farmacologico del carcinoma mammario è avvenuto utilizzando i risultati di studi clinici controllati, impostati su quesiti biologici precisi e condotti in modo rigoroso. L'efficacia della polichemioterapia e dell'endocrinoterapia nelle pazienti ad alto rischio di micrometastasi dopo chirurgia e, più recentemente, l'utilizzo di una chemioterapia primaria per aumentare la frequenza di interventi chirurgici conservativi hanno rivoluzionato gli scopi e i risultati della terapia medica.

### Endocrinoterapia

Prima dell'avvento della moderna polichemioterapia il trattamento endocrino rappresentava praticamente l'unica vera forma di terapia medica per il carcinoma mammario in fase avanzata. Oggi l'impiego dell'endocrinoterapia è divenuto più selettivo se si conosce lo stato dei recettori ormonali per l'estradiolo (RE) e il progesterone (PR).

La risposta terapeutica varia dal 20 all'80% dei casi e dipende soprattutto dal contenuto cellulare dei recettori, espresso in femtomoli per milligrammo di proteina. Regressioni tumorali parziali o complete si osservano in oltre i due terzi dei casi quando entrambi i recettori sono altamente positivi. In genere è più facile osservare una risposta favorevole a vari trattamenti endocrini nelle pazienti in postmenopausa, poiché in questo gruppo la percentuale con RE positivi è globalmente più elevata rispetto alle pazienti in premenopausa. Per la stessa ragione la risposta al trattamento endocrino è più frequente nei tumori a lenta evoluzione, cioè con recidiva del carcinoma dopo un intervallo libero dalla chirurgia superiore a due anni e con metastasi alle parti molli (cute, linfonodi, m. stessa) o allo scheletro. In generale, se la neoplasia è regredita dopo un trattamento endocrino ha molte possibilità di rispondere a un secondo trattamento ormonale quando il primo cessa di essere efficace.

Dei vecchi trattamenti endocrini di tipo chirurgico, o sottrattivo, è sopravvissuta solo l'*ovariectomia*, mentre surrenectomia e ipofisectomia sono oggi terapie obsolete. In realtà anche l'ovariectomia può essere efficacemente sosti-





Digitized by Google

tuita dall'endocrinoterapia additiva, cioè costituita da nuovi farmaci. Fra gli antiestrogeni, il *tamoxifene* (v.; 20 mg al giorno) è il composto più frequentemente utilizzato nella pratica clinica. Somministrabile per bocca, è molto maneggevole e poco tossico. Fra gli ormoni pituitarici (danazolo, leuprolide, buserelin, goserelin) il *goserelin* presenta il vantaggio, rispetto agli altri analoghi dell'LHRH, di richiedere una sola somministrazione mensile per via sottocutanea a spese di effetti collaterali modesti. Altri farmaci utili nella terapia endocrina del carcinoma mammario sono gli inibitori dell'aromatasi, fra i quali l'*aminoglutetimide* rimane il composto più estesamente valutato, e i *progestinici* (medrossiprogesterone acetato, megestrolo).

Malgrado i numerosi studi effettuati negli ultimi anni e qualche risultato promettente in termini di percentuale di regressione, non esiste una sicura evidenza che l'associazione di più ormoni (poliendocrinoterapia) sia in grado di migliorare il controllo a lungo termine del carcinoma mammario in fase avanzata.

L'*endocrinoterapia adiuvante* è oggi una realtà clinica soprattutto mediante la somministrazione per tre o più anni dell'antiestrogeno tamoxifene alla dose di 20 mg al giorno. Nelle pazienti con linfonodi ascellari istologicamente positivi, la riduzione di mortalità per carcinoma mammario a 5 e a 10 anni dall'intervento chirurgico è circa 20% nelle pazienti in postmenopausa (tab. II). Questo effetto terapeutico sembra assai meno pronunciato nello stesso gruppo di pazienti con linfonodi ascellari istologicamente negativi.

**TAB. II. RIDUZIONE DEL RISCHIO DI MORTE PER CARCINOMA MAMMARIO DOPO CHEMIOTERAPIA E TAMOXIFENE ADIUVANTE NEI CONFRONTI DELLA SOLA CHIRURGIA. RISULTATI A 5 ANNI**

(Dati dell'*Early Breast Cancer Trialists's Collaborative Group*, 1988)

| Trattamento | Totale % | < 50 anni % | ≥ 50 anni % |
|---|---|---|---|
| Monochemioterapia | 4 | 11 | −4 |
| Polichemioterapia | 17 | 26 | 8 |
| CMF (ciclofosfamide, metotrexate, fluorouracile) | 23 | 37 | 9 |
| Tamoxifene | 16 | −1 | 20 |

Per poter assicurare il massimo beneficio terapeutico è consigliabile limitare la somministrazione di tamoxifene adiuvante alle pazienti con recettori endocrini positivi.

**Chemioterapia**

Nel carcinoma mammario, come in altre neoplasie, la chemioterapia è stata sviluppata e applicata soprattutto per curare la neoplasia metastatica. Su questa base, all'inizio degli anni '70, è stata impostata la strategia terapeutica delle micrometastasi (chemioterapia adiuvante) nelle pazienti ad alto rischio di ricaduta dopo trattamento locoregionale. Negli ultimi anni il trattamento farmacologico antitumorale è stato utilizzato quale primo evento terapeutico (chemioterapia primaria o neoadiuvante) per ridurre il volume tumorale e consentire quindi una mastectomia nei carcinomi localmente in fase avanzata (T4) o un intervento chirurgico conservativo (quadrantectomia, tumorectomia) nelle neoplasie con diametro fra 3 e 8 centimetri.

La tab. III presenta gli schemi polichemioterapici di più frequente impiego nel trattamento del carcinoma mammario, a prescindere dallo stadio clinico o patologico. L'utilizzo appropriato di questi trattamenti richiede considerevole esperienza. Infatti, al fine di ottenere il risultato terapeutico ottimale è indispensabile somministrare i farmaci con una elevata intensità di dose senza produrre effetti collaterali gravi se non irreversibili. Tra i farmaci indicati il mitoxantrone (Novantrone®) è quello meno frequentemente associato a vomito e caduta (reversibile) dei capelli, eventi molto importanti per la qualità di vita delle pazienti. La mielodepressione, in particolare la leucopenia, è un evento comune a tutti gli schemi terapeutici indicati, ma assai più frequente dopo mitoxantrone rispetto all'epirubicina (v.*). L'amenorrea indotta da ciclofosfamide (v.*) è frequente e sovente irreversibile se l'età della paziente è ≥ 40 anni.

Gli effetti collaterali più temibili sono quelli a distanza e quindi riscontrabili nelle pazienti lungo-sopravviventi. In pazienti adulte, non preirradiate sul torace e senza aritmia cardiaca in atto, la manifestazione clinica di miocardiopatia da farmaci è oggi un evento molto raro (≤ 2%), purché il dosaggio cumulativo non superi la dose rischio. Sebbene numerosi studi abbiano indicato che a parità di dose, l'epirubicina è meno cardiotossica dell'adriamicina (doxorubicina [v.*]), in realtà la somministrazione di mitoxantrone, ai dosaggi cumulativi consigliati (≤ 90 mg per $m^2$ di superficie corporea) non induce quasi mai uno scompenso car-

**TAB. III. SCHEMI DI POLICHEMIOTERAPIA**

| | Farmaci | Dosi e via di somministrazione | | Intervallo |
|---|---|---|---|---|
| CMF | Ciclofosfamide | 100 mg/$m^2$ *per os* | 1° → 14° giorno | ogni 28 giorni |
| | Metotrexate | 40 mg/$m^2$ e. v. | 1° e 8° giorno | |
| | Fluorouracile | 600 mg/$m^2$ e. v. | 1° e 8° giorno | |
| | *oppure* | | | |
| CMF | Ciclofosfamide | 600 mg/$m^2$ e. v. | 1° e 8° giorno | ogni 28 giorni |
| | Metotrexate | 40 mg/$m^2$ e. v. | 1° e 8° giorno | |
| | Fluorouracile | 600 mg/$m^2$ e. v. | 1° e 8° giorno | |
| FAC | Fluorouracile | 500 mg/$m^2$ e. v. | 1° e 8° giorno | ogni 21 giorni |
| | Adriamicina | 50 mg/$m^2$ e. v. | 1° giorno | |
| | Ciclofosfamide | 500 mg/$m^2$ e. v. | 1° giorno | |
| FEC | Fluorouracile | 500 mg/$m^2$ e. v. | 1° e 8° giorno | ogni 21 giorni |
| | Epirubicina | 75 mg/$m^2$ e. v. | 1° giorno | |
| | Ciclofosfamide | 500 mg/$m^2$ e. v. | 1° giorno | |
| FNC | Fluorouracile | 500 mg/$m^2$ e. v. | 1° e 8° giorno | ogni 21 giorni |
| | Novantrone® (mitoxantrone) | 10 mg/$m^2$ e. v. | 1° giorno | |
| | Ciclofosfamide | 500 mg/$m^2$ e. v. | 1° giorno | |





Digitized by Google

diaco di tipo congestizio. Una somministrazione prolungata nel tempo di farmaci alchilanti, quali la ciclofosfamide, può essere cancerogena e quindi indurre la comparsa di secondi tumori, in particolare la leucemia acuta non linfoblastica. Questo rischio è ovviamente importante nelle pazienti sottoposte a chemioterapia adiuvante. Come è stato ampiamente dimostrato nella vasta casistica dell'Istituto Nazionale Tumori di Milano, seguita per oltre 15 anni dopo 6 o 12 cicli di CMF (ciclofosfamide, metotrexate, fluorouracile) adiuvante, il rischio di cancerogenesi indotto dalla chemioterapia è minimo e, in ogni caso, non superiore a quello delle pazienti trattate con sola chirurgia.

Nei carcinomi in fase localmente avanzata o clinicamente metastatizzata la polichemioterapia è indicata quando esiste rapida evoluzione della malattia, stato recettoriale negativo o resistenza a un pregresso trattamento endocrino. Gli schemi terapeutici segnalati nella tab. III inducono risposte terapeutiche percentualmente equivalenti. Le regressioni tumorali misurabili alla palpazione o mediante immagini radiologiche variano dal 50 al 75%; la percentuale di risposta dipende soprattutto dalla massa neoplastica globale, in particolare dal numero di sedi anatomiche interessate. In genere è più frequente osservare una risposta obiettiva se la neoplasia interessa solo i tessuti molli piuttosto che le ossa o il fegato. Le remissioni cliniche complete, con qualunque schema utilizzato, non superano il 20-25% dei casi responsivi. La durata mediana della risposta oscilla tra 7 e 10 mesi; la sopravvivenza mediana dall'inizio della chemioterapia non è quasi mai superiore a 18-20 mesi.

Anche recenti tentativi con alte dosi di chemioterapia seguite da trapianto di midollo osseo autologo, pur aumentando la percentuale di remissioni cliniche complete, non sono stati in grado di dimostrare un prolungamento della remissione e della sopravvivenza globale. Per tale ragione il trattamento ad alte dosi con autotrapianto di midollo osseo non è oggi consigliabile, se non in casi molto selezionati, nel trattamento del carcinoma mammario in fase avanzata.

**Chemioterapia adiuvante**

Il trattamento chemioterapico adiuvante nelle pazienti con alto rischio di malattia micrometastatizzata, in vari organi e tessuti, al momento dell'intervento chirurgico, ha costituito nelle ultime due decadi l'evento recente più significativo di tutta la terapia del carcinoma mammario. La strategia del trattamento combinato (chirurgia → chemioterapia) è fondata su solidi principi biologici e farmacologici. Brevemente, si ritiene che le micrometastasi contengano una percentuale minima di cellule geneticamente farmacoresistenti e siano quindi più vulnerabili a dosi ottimali di chemioterapici rispetto alle macrometastasi nelle quali la quota di cellule farmacoresistenti è sempre assai elevata. Dal punto di vista strettamente clinico, il trattamento multidisciplinare del carcinoma mammario operabile si basa essenzialmente sul concetto che esistono micrometastasi disseminate nel 75% dei casi con linfonodi ascellari positivi e in circa il 25% quando i linfonodi sono negativi. Sebbene i primi studi con monochemioterapia adiuvante risalgano alla fine degli anni '50, le moderne sperimentazioni terapeutiche controllate prendono avvio all'inizio degli anni '70 con il *National Surgical Adjuvant Breast Project* in U.S.A. (programma melfalan) e l'Istituto Nazionale Tumori di Milano (programma CMF). L'efficacia terapeutica della chemioterapia adiuvante è stata confermata nel 1988 da una revisione internazionale condotta dall'*Early Breast Cancer Trialists's Collaborative Group* su una casistica di circa 30.000 pazienti inserite in una sessantina di studi clinici randomizzati effettuati in varie parti del mondo (tab. II).

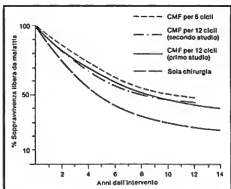



Fig. 32. Sopravvivenza libera da malattia nelle pazienti operate con linfonodi ascellari positivi. Sintesi degli studi con CMF adiuvante. (*Dati dell'Istituto Tumori di Milano*).

Questa revisione ha confermato che il trattamento medico adiuvante postoperatorio è in grado di ridurre significativamente a 5 e a 10 anni il rischio di ricaduta di malattia, soprattutto se viene impiegata una polichemioterapia tipo CMF (fig. 32). Per quanto riguarda la sopravvivenza globale i risultati delle prime sperimentazioni hanno messo in evidenza un netto vantaggio della chemioterapia solo nelle pazienti in premenopausa, mentre l'efficacia del tamoxifene adiuvante sembrava limitata ai casi in postmenopausa (età > 50 anni). In studi successivi, in cui si è prestata maggior cura alla somministrazione di adeguata intensità di dose per i vari farmaci e alla determinazione sistematica dei recettori ormonali, le differenze nei risultati terapeutici fra pre- e postmenopausa sono molto sfumate sia dopo chemioterapia che dopo tamoxifene.

All'inizio degli anni '90 non esistono ancora risultati sicuri in merito alla superiorità dell'associazione di chemioormonoterapia nei confronti della sola chemioterapia mentre è chiara la superiorità nei confronti della sola ormonoterapia. Dal momento che la popolazione neoplastica è eterogenea, nel senso che è sovente costituita da una commistione di cellule recettore-positive e recettore-negative, a rapida e lenta velocità di moltiplicazione, la somministrazione simultanea di chemioterapia e ormonoterapia potrebbe esercitare un effetto antagonista. Infatti la chemioterapia, per essere efficace, richiede la presenza di rapida proliferazione cellulare, mentre la terapia endocrina ha fondamentalmente un meccanismo d'azione di tipo citostatico. Per tale ragione le due forme di trattamento potrebbero risultare più efficaci se somministrate in forma sequenziale.

Per quanto riguarda le pazienti con linfonodi ascellari istologicamente negativi, l'indicazione a una terapia medica adiuvante di routine rimane in parte controversa, in quanto un'elevata percentuale di pazienti (70-75%) potrebbe essere considerata guarita con il solo trattamento loco-regionale. Occorre quindi informare con tatto le pazienti sul possibile rischio di nuove manifestazioni di neoplasia in base a semplici indicatori prognostici. La presenza di due o più indicatori prognostici, come esemplificato nella tab. IV, può favorire l'indicazione a una polichemioterapia adiuvante tipo CMF. I dati finora segnalati da vari centri





Digitized by Google

TAB. IV. LINEE GUIDA PRINCIPALI PER I TRATTAMENTI FARMACOLOGICI ADIUVANTI

| Linfonodi ascellari | Stato menopausale | Recettori ormonali | Attività proliferativa | Terapia medica consigliata |
|---|---|---|---|---|
| 0 | Pre e post | Positivi | Bassa | Nessuna |
| | Pre | Positivi | Alta | CMF per 6 cicli mensili |
| | Post | Positivi | Alta | CMF per 6 cicli mensili seguito da tamoxifene per almeno 3 anni |
| | Pre e post | Negativi | Indifferente | CMF per 6 cicli mensili |
| 1-3 | Pre | Indifferenti | Indifferente | CMF per 6 cicli mensili |
| | Post | Positivi | Bassa | Tamoxifene per almeno 3 anni |
| | Post | Positivi | Alta | CMF per 6 cicli mensili seguito da tamoxifene per almeno 3 anni |
| | Post | Negativi | Indifferente | CMF per 6 cicli mensili |
| > 3 | Pre | Indifferenti | Indifferente | Chemioterapia intensiva (adriamicina seguita da CMF) |
| | Post | Positivi | Indifferente | Adriamicina → CMF seguiti da tamoxifene per almeno 3 anni |
| | Post | Negativi | Indifferente | Adriamicina → CMF |

oncologici hanno confermato a 5 e più anni la validità del trattamento chemioterapico adiuvante nei sottogruppi di pazienti ad alto rischio di recidiva (fig. 33). La somministrazione di tamoxifene adiuvante per 3 o più anni nelle pazienti con linfonodi ascellari negativi può essere giustificata solo dalla presenza di positività recettoriale. Il vantaggio terapeutico esiste soprattutto nella sopravvivenza libera da malattia, anche se la differenza, tra gruppo trattato e non, è modesta.

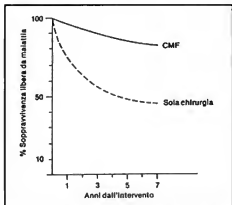
Da un punto di vista pratico, la chemioterapia adiuvante va iniziata entro 2-3 settimane dall'intervento chirurgico, controllando il livello dei leucociti e delle piastrine circolanti lo stesso giorno della somministrazione endovenosa dei farmaci. L'endocrinoterapia con tamoxifene può essere iniziata dopo qualche giorno dall'intervento chirurgico. Le pazienti devono essere visitate mensilmente durante tutta la durata del trattamento chemioterapico, quindi ogni 4-6 mesi.

Durante il primo anno gli esami radiologici di controllo consistono nella radiografia del torace e in quella dello scheletro (o scintigrafia ossea) ogni 6-8 mesi. A partire dal quarto anno gli esami radiologici vanno eseguiti ogni 12 mesi, compresa la mammografia della m. controlaterale. Nel sospetto o in presenza di ricaduta, deve essere fatto ogni ragionevole sforzo per documentare accuratamente (anche con biopsia) la sede e l'entità della metastatizzazione. Il tipo di trattamento secondario dipende in gran parte dallo stato dei recettori ormonali determinati al momento dell'intervento chirurgico. Se questi sono negativi e l'intervallo fra il termine della terapia adiuvante e la manifestazione clinica di metastasi è maggiore di 12 mesi si può utilizzare ancora la chemioterapia iniziale ottenendo risposte obiettivabili nel 30-50% dei casi. Se invece l'intervallo è inferiore a 12 mesi è opportuno utilizzare una polichemioterapia con farmaci non *cross*-resistenti.

Fig. 33. Sopravvivenza libera da malattia nelle pazienti con linfonodi ascellari negativi e RE (recettori per l'estradiolo) negativi: solo trattamento locoregionale *vs.* trattamento combinato con CMF. (*Dati dell'Istituto Tumori di Milano*).

**Chemioterapia primaria**

La terapia combinata con chemioterapia primaria (neoadiuvante) rappresenta oggi il trattamento di elezione nelle pazienti con *carcinoma mammario inoperabile perché localmente avanzato*. Il trattamento farmacologico iniziale comprende quasi sempre una combinazione contenente adriamicina (o epirubicina), tipo FAC (fluorouracile, adriamicina, ciclofosfamide) o FEC (fluorouracile, epirubicina, ciclofosfamide) oppure CMF (ciclofosfamide, metotrexate, fluorouracile) per via endovenosa per 3-4 cicli mensili. La percentuale di risposte obiettive (50-80%) varia soprattutto in rapporto al volume tumorale, ma in genere le remissioni clinico-mammografiche complete non superano il 20%.

Nelle pazienti con *carcinoma mammario non infiammatorio*, la chemioterapia primaria viene seguita da un intervento chirurgico con dissezione ascellare completa e quindi da una radioterapia locoregionale postoperatoria. L'intervento chirurgico consiste generalmente nella mastectomia radicale modificata; tuttavia in casi ben selezionati e con ottima regressione del tumore primario è tecnicamente possibile eseguire un intervento conservativo. Il reperto anatomopatologico evidenzia quasi sempre residui neoplastici nei linfonodi ascellari e solo in circa il 5% di questi tumori è documentabile una remissione istopatologica completa. Dopo il completamento della terapia locoregionale è consigliabile somministrare un trattamento chemioterapico postoperatorio per circa 6 mesi, seguito da una eventuale endocrinoterapia (tamoxifene per almeno 3 anni) specie in presenza di recettori positivi. Studi recenti hanno infatti posto in evidenza che il trattamento farmacologico postoperatorio è in grado di migliorare la prognosi di queste pazienti e che la sopravvivenza libera da malattia è inversamente proporzionale alle dimensioni del tumore primario.





Digitized by Google

Le pazienti con *carcinoma infiammatorio* ($T4_d$) hanno prognosi ancora peggiore di quelle con stadio $T4_{b-c}$. Il trattamento di scelta in questa forma aggressiva di neoplasia è costituito dalla chemioterapia primaria (la maggior parte dei casi si presenta con recettori ormonali negativi) comprendente adriamicina o epirubicina. Molti oncologi clinici preferiscono aggiungere anche un corticosteroide al trattamento citotossico. La percentuale di risposte obiettive è analoga a quella delle pazienti con carcinoma mammario localmente avanzato ma non di tipo infiammatorio. Ottenuta la massima regressione tumorale con la chemioterapia primaria, il trattamento locoregionale è ancora oggi rappresentato dalla *radioterapia*; l'intervento chirurgico di mastectomia può essere eseguito solo in casi molto ben selezionati. Non è tuttora ben definito l'approccio consigliabile dopo il trattamento locoregionale. Teoricamente sarebbe logico somministrare una polichemioterapia non-*cross* resistente per 3-5 cicli nel tentativo di ridurre o dilazionare la comparsa di nuove manifestazioni di neoplasia. È certo, pur in assenza di studi randomizzati, che una terapia medica intensiva è in grado di migliorare la sopravvivenza globale delle pazienti con carcinoma infiammatorio. Tuttavia devono ritenersi ancora preliminari i risultati ottenuti dopo chemioterapia ad alte dosi seguita da trapianto di midollo osseo.

La terapia multidisciplinare con chemioterapia primaria nelle pazienti con *carcinoma mammario operabile* rappresenta una nuova strategia terapeutica il cui scopo iniziale è di sostituire un intervento chirurgico mutilante, quale la mastectomia radicale modificata, con un intervento chirurgico conservativo (quadrantectomia, tumorectomia) nelle pazienti in cui la dimensione del tumore primario (3-5 cm) può rappresentare un fattore di rischio elevato per recidive locali dopo sola chirurgia conservativa o in cui la dimensione della neoplasia rende tecnicamente non eseguibile l'intervento conservativo. Dati recenti dell'Istituto Tumori di Milano hanno confermato che l'intervento chirurgico conservativo dopo chemioterapia primaria può essere eseguito in circa il 90% delle pazienti altrimenti candidate ad un intervento chirurgico mutilante. Questo risultato cli-

**TAB. V. LINEE TERAPEUTICHE CONSIGLIABILI IN PRESENZA DI NEOPLASIA IN APPARENTE FASE LOCOREGIONALE**

| Stadio clinico o dimensione in cm | Trattamento |
|---|---|
| T1-T2 ≤ 2,5 cm | Chirurgia conservativa (quadrantectomia o tumorectomia)<br>+ Dissezione ascellare completa<br>+ Radioterapia sulla mammella operata<br>Terapia medica adiuvante in base ai fattori prognostici (tab. IV) |
| T2 > 2,5 cm-$T_3$ | Chemioterapia primaria per 3-4 cicli<br>+ Chirurgia conservativa (quadrantectomia o tumorectomia)<br>+ Dissezione ascellare completa<br>+ Radioterapia sulla mammella operata<br>Terapia medica adiuvante per 3-6 cicli<br>*oppure*<br>Mastectomia semplice o radicale modificata<br>Terapia medica adiuvante in base ai fattori prognostici (tab. IV) |
| $T4_{(a,b,c)}$ | Chemioterapia primaria fino alla massima regressione tumorale<br>+ Chirurgia (conservativa o mastectomia in rapporto alla regressione ottenuta)<br>+ Dissezione ascellare completa<br>+ Radioterapia postoperatoria (parete toracica, linfonodi mammari interni e sovraclaveari omolaterali)<br>Terapia medica adiuvante (es. chemioterapia per 6 cicli → ormonoterapia) |
| $T4_{(d)}$ | Chemioterapia primaria fino alla massima regressione tumorale<br>+ Radioterapia locoregionale<br>+ Eventuale chirurgia in casi selezionati<br>Terapia medica adiuvante |

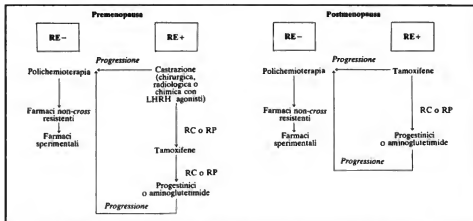



Fig. 34. Linee strategiche generali nella terapia del carcinoma mammario metastasizzato. RE: recettori per l'estradiolo; RC: regressione tumorale completa; RP: regressione parziale.

nico può essere ottenuto con vari schemi terapeutici (CMF, FAC, FEC, FNC, sola adriamicina a 75 mg/m$^2$ ogni 3 settimane), a prescindere dallo stato menopausale, recettoriale e citoproliferativo.

Dopo chemioterapia primaria, l'entità della regressione della neoplasia è inversamente proporzionale alle dimensioni cliniche iniziali del tumore primario, ma la quadrantectomia è stata tecnicamente eseguibile anche nel 70% delle pazienti con tumore > 5 cm. In circa il 5% delle pazienti con tumore fra 3 e 5 cm il reperto istopatologico ha evidenziato una regressione completa della neoplasia sia a livello mammario che dei linfonodi ascellari, mentre la presenza di microfocolai neoplastici residui è un reperto relativamente frequente dopo chemioterapia primaria adeguata.

L'intervento chirurgico conservativo, completato dalla dissezione completa dei linfonodi ascellari e seguito dalla radioterapia postoperatoria sulle porzioni residue della m., è in grado di ottenere un buon risultato estetico, specialmente se il diametro massimo della neoplasia iniziale è ridotto a 3 cm o meno al controllo mammografico preoperatorio. A circa 2 anni dall'intervento chirurgico conservativo il rischio di ripresa locale è inferiore all'1%.

Risultati simili sono stati ottenuti anche da altri ricercatori americani ed europei. La chemioterapia primaria seguita dall'intervento chirurgico conservativo e dalla radioterapia mammaria rimane ancora oggi un trattamento sperimentale *per quanto concerne i risultati a distanza, cioè la sopravvivenza libera da malattia e la sopravvivenza globale a 5 e più anni*. Occorre infatti valutare adeguatamente un'integrazione ottimale tra chemioterapia primaria e terapia medica postoperatoria nelle pazienti a rischio di ripresa della neoplasia perché la preservazione dell'integrità corporea sia associata a un ulteriore reale miglioramento della sopravvivenza nei confronti di strategie terapeutiche convenzionali.

**Strategia terapeutica globale**

Le tabb. IV e V riassumono schematicamente le linee strategiche generali oggi consigliabili nella pratica clinica corrente. Come si può vedere, predomina l'approccio multidisciplinare. La *chemioterapia primaria* viene inserita ogni qualvolta la dimensione del tumore superi 2,5 cm in quanto è dovere del medico cercare di preservare, ove possibile, l'integrità corporea della paziente. In linea generale, è consigliabile che la *radioterapia* venga eseguita dopo la chemioterapia postoperatoria per evitare una sommazione di effetti mielotossici. È inoltre raccomandabile determinare sul tessuto neoplastico asportato, o sui suoi residui, tutti gli indicatori prognostici (grado istologico, stato linfonodale, recettoriale e citoproliferativo) utili a formulare la strategia postoperatoria.

Nella tab. IV sono state riassunte le linee guida principali per la *terapia medica adiuvante*. Pur basandosi sulle conclusioni della Consensus Development Conference tenutasi nel 1985 al National Cancer Institute di Bethesda, tali linee guida prendono in considerazione i risultati di studi clinici più recenti.

Inoltre, per alcuni sottogruppi ad alto rischio, viene suggerito un *trattamento combinato sequenziale* con *chemioterapia* seguita da *tamoxifene*. La sequenzialità è preferibile alla somministrazione simultanea ad evitare possibili interferenze negative tra chemioterapia e ormonoterapia.

Tali linee guida non escludono variazioni opportune dallo schema consigliato in casi particolari, ma tendono a scoraggiare trattamenti arbitrari, se non improvvisati, per i quali l'efficacia terapeutica e/o la tossicità non sono noti.

Nel carcinoma in fase clinicamente metastasizzata la fig. 34 schematizza le linee strategiche generali. Come si vede, il trattamento è fondato soprattutto sulla conoscenza dello stato dei recettori per l'estradiolo (RE). Come più volte ripetuto, la determinazione dei recettori consente di selezionare il trattamento iniziale in modo più adeguato. Se il RE ha un basso livello di fentomoli (< 10) e la malattia ha caratteri di aggressività (es. intervallo libero < 2 anni, metastasi epatiche massive e/o polmonari di tipo linfangitico) è opportuno somministrare sequenzialmente polichemioterapia ed endocrinoterapia. In linea generale, nelle pazienti con età ≥ 70 anni è sempre opportuno iniziare il trattamento medico con endocrinoterapia (es. tamoxifene) e utilizzare la chemioterapia solo quando esiste chiara evidenza di non responsività al trattamento ormonale.

**Bibliografia**

Bonadonna G., Conceptual and practical advances in the management of breast cancer. Karnofsky Memorial Lecture. *J. Clin. Oncol.*, 1989, **7**, 1380-1397.
Bonadonna G., Veronesi U., Brambilla C. *et al.*, Primary chemotherapy to avoid mastectomy in tumors with diameters of three centimeters or more, *J. Natl. Cancer Inst.*, 1990, **82**, 1539-1545.
Bonadonna G., Valagussa P., Brambilla C. *et al.*, Adjuvant and neoadjuvant treatment of breast cancer with chemotherapy and/or endocrine therapy. *Semin. Oncol.*, 1991 (in corso di stampa).
Bonadonna G., Robustelli della Cuna G., *Manuale di oncologia medica*, 4ª ed., 1991, Masson, Milano.

GIANNI BONADONNA

## MAMMOGRAFIA [v. vol. IX, col. 307]

**Importanza della mammografia nelle indagini dei tumori della mammella**

Alla distanza di quasi dieci anni dalla stesura del capitolo riguardante la mammografia, malgrado non si siano spostati di molto i termini del problema diagnostico, pur tuttavia è opportuno fare il punto sullo stato dell'arte in ambito senologico perché sul piano applicativo, pratico, la strategia operativa si è semplificata ed è utile chiarire subito che le nuove tecniche e metodiche di *imaging*, quali la TC, la RMN e la luce di sincrotrone (quest'ultima ancora in fase sperimentale), non hanno raggiunto il valore diagnostico della m. Si può, infatti, confermare con sicurezza che l'esame mammografico costituisce ancora oggi il solo mezzo diagnostico strumentale in grado di consentire il riconoscimento preclinico del cancro della mammella (v.*), quando il tumore non è ancora apprezzabile alla palpazione (Di Maggio, 1991; Gest, 1990; Luzzatti e Tonegutti, 1986; Rosselli Del Turco, 1991). Ed è questo l'elemento diagnostico di partenza più importante poiché non siamo ancora pervenuti alla caratterizzazione tessutale e quindi alla diagnosi di natura istologica.

Partendo dal presupposto che il cancro della mammella, scoperto in fase iniziale, presenta altissime probabilità di guarigione, si può concludere che, sino a quando non se ne conoscerà l'etiologia, il solo modo per diminuirne la mortalità è rappresentato dall'anticipazione della diagnosi in fase asintomatica e cioè dallo *screening* mammografico: il solo che ha dimostrato la capacità di ridurre la mortalità del 40% ed oltre (Gordenne, 1990; Rosselli Del Turco, 1991; Sickles, 1984; Van den Bosch *et al.*, 1990). Nessuna altra tecnica strumentale, ivi compresa l'ecografia, per ovvie considerazioni non solo di ordine tecnico ma anche di rapporto costo/beneficio, ha consentito il raggiungimento di simili risultati (Giuseppetti *et al.*, 1990; Gozzi *et al.*, 1990).

Da questa breve premessa emerge chiaramente che, proprio in relazione alle continue riconferme cliniche che ci vengono dagli ormai numerosi programmi di *screening* che si stanno conducendo nel mondo, le innovazioni tecnologiche che effettivamente meritano di essere conosciute e ri-





Digitized by Google

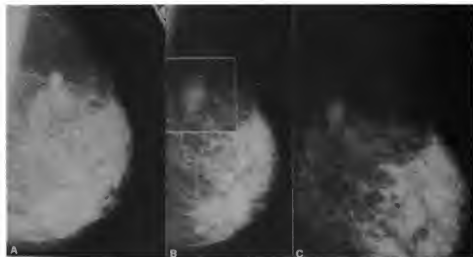



Fig. 1. M. tradizionale: *A*) nodulo al quadrante superoesterno; *B*) stessa immagine esaminata su monitor ad alta risoluzione mediante lente elettronica; *C*) ingrandimento elettronico 2× ed elaborazione di finestra su monitor.

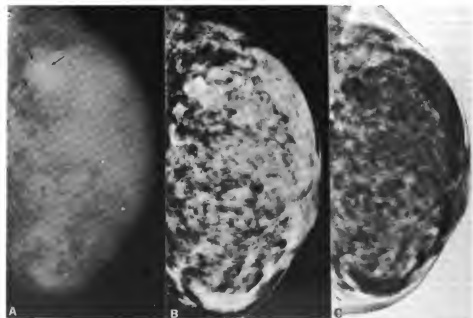



Fig. 2. M. digitale: *A*) seno denso con nodulo sospetto (*frecce*); *B*) elaborazione elettronica dell'immagine; *C*) inversione della scala dei grigi che consente un'analisi del parenchima e del profilo cutaneo.





Digitized by Google

cordate sono quelle relative alla m. perché, oltre le già ricordate TC e RMN, anche la termografia, la diafanoscopia e la medicina nucleare non dovrebbero più venire impiegate con l'intendimento di diagnosi precoce di cancro della mammella (Di Maggio, 1991; Van den Bosch *et al.*, 1990).

In donne sintomatiche cioè in ambito clinico al di fuori dello *screening*, l'ecografia riveste invece un suo ruolo integrativo della m., di indiscusso valore diagnostico ed anche per quanto riguarda il prelievo citologico ecoguidato per chi non dispone della stereotassi mammografica (Cosmacini *et al.*, 1991; Luzzatti e Tonegutti, 1986; Tonegutti *et al.*, 1990).

**Progressi tecnologici in mammografia**

Il grande salto di qualità in m. si è verificato dagli anni '70 in poi quando si è diffuso in Italia il progetto DQM (*Dose e Qualità in Mammografia*) che ha consentito, attraverso la ricerca, di migliorare notevolmente la qualità dell'immagine e quindi la capacità diagnostica, riducendo nel contempo drasticamente la dose al seno della paziente (Panzarola e Bellucci, 1991; Rimondi *et al.*, 1991).

Per conseguire questo risultato sono stati progressivamente migliorati tutti gli anelli della catena dell'*imaging* che vanno dalla emissione dei raggi X fino all'interpretazione dell'immagine.

Dalla ricerca, che è in continua evoluzione tecnologica, sono stati messi a punto i nuovi *mammografi dedicati*, sostanzialmente diversi dai precedenti per potenza, dimensioni sempre più piccole della macchia focale, geometria del fascio, presenza dell'esposimetro automatico, possibilità di inserire la griglia per ridurre la radiazione diffusa con conseguente guadagno in termini di definizione e contrasto.

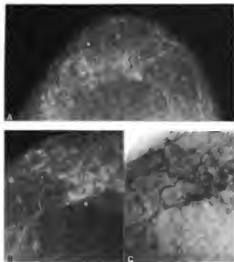



Fig. 3. M. digitale: *A*) addensamento non palpabile, irregolare nei contorni con microcalcificazioni; *B*) elaborazione ed ingrandimento su monitor; *C*) inversione della scala dei grigi con migliore riconoscimento dei contorni.

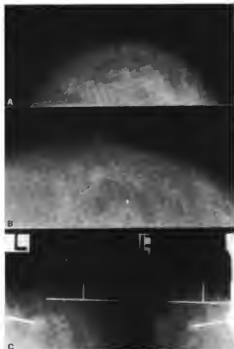



Fig. 4. M. tradizionale: *A*) piccolo nodulo retroareolare; *B*) ingrandimento diretto 2× che consente di meglio riconoscere i contorni spiculati; *C*) centratura dell'ago per il prelievo citologico stereotassico.

Sono stati recentemente introdotti nuovi sistemi di rilevazione dell'immagine comprendenti la *radiologia digitale*, non solo più sensibili, ma capaci anche di amplificare notevolmente il basso contrasto naturale (figg. 1 e 2).

Sono state create *sviluppatrici automatiche dedicate* che vengono a facilitare il delicato problema del trattamento chimico delle pellicole che spesso sta alla base dell'insufficiente qualità dell'immagine.

È stata precisata la metodica di esecuzione dell'esame ed è stata messa a punto la tecnica dell'ingrandimento mammografico diretto che, pur creando il problema delle microcalcificazioni, ha senza dubbio favorito il riconoscimento dei piccoli cancri (Chan *et al.*, 1990) (fig. 3).

Questi indiscutibili progressi tecnologici hanno fatto progredire la diagnostica radiologica riducendo sensibilmente il numero dei seni densi giovanili illeggibili alla m., ma hanno anche creato il problema, scottante per il chirurgo ed il patologo, del riconoscimento sul campo operatorio del piccolo cancro per cui si è venuta sempre più affinando la messa a punto di accessori del mammografo capaci di centrare con tecnica radiostereotassica lesioni di pochi millimetri di diametro (Ciatto *et al.*, 1991) (fig. 4).

A ragione si può oggi dire che questi accessori, idonei per ottenere significativi agoaspirati e per la localizzazione





Digitized by Google

Fig. 5. M. tradizionale: *A*) nodulo profondo, non palpabile, con microcalcificazioni (*frecce*); *B*) posizionamento dell'ago su guida stereotassica; *C*) localizzazione prechirurgica mediante repere metallico ad uncino.

prechirurgica di piccoli tumori attraverso filo metallico lasciato *in situ* o contrassegni di coloranti vari, rappresentano la conclusione attuale di un'evoluzione tecnologica che permette il riconoscimento di oltre il 60% di carcinomi di diametro inferiore a 1 cm che è la condizione indispensabile per migliorare la prognosi del carcinoma mammario (fig. 5).

La ripercussione pratica dei progressi tecnici sinteticamente elencati è avvalorata dalle più recenti statistiche di grosse casistiche controllate che dimostrano come, pur rimanendo pressoché invariata la già alta sensibilità della tecnica mammografica che supera il 90%, il rapporto diagnostico fra piccoli tumori (< di 1 cm) e tumori di oltre 2 cm di diametro si è praticamente invertito a vantaggio dei primi dopo l'impiego della nuova tecnica mammografica (Giuseppetti *et al.*, 1990).

In conclusione, nel 1992 si può affermare che la diagnosi strumentale in senologia si basa sulla m., tecnica principe ed insostituibile.

Essa consente, infatti, di riconoscere circa il 70% dei tumori di diametro < 1 cm e di ridurre la mortalità dell'ordine di circa il 50% nell'ambito dello *screening*. Le dosi assorbite nell'esecuzione della m. sono talmente basse da non rappresentare più un rischio reale per la popolazione e la tecnica stereotassica permette di concludere rapidamente e con alta attendibilità l'*iter* diagnostico anche nelle lesioni più piccole non palpabili.

V. anche: MAMMELLA*, *protocollo diagnostico in senologia* (col. 4817).

**Bibliografia**

Chan H. P., Doi K., Vyborny C. J. *et al.*, *Invest. Radiol.*, 1990, **25**, 1102-1110.
Ciatto S., Rosselli Del Turco M., Bravetti P., Catarzi S., *Radiol. Med.*, 1991, **81**, 65-68.
Cosmacini P., Galimberti V., Veronesi P. *et al.*, *Radiol. Med.*, 1991, **81**, 140-149.
Di Maggio C., *Radiol. Med.*, 1991, **81**, 585-591.
Gest J., *JBR-BTR*, 1990, **73**, 325.
Giuseppetti G. M., Baldassarre S., Ercolani P. *et al.*, *Radiol. Med.*, 1990, **80**, 841.
Gordenne W., *JBR-BTR*, 1990, **73**, 335.
Gozzi G., Stacul F., Bassini A. *et al.*, *Radiol. Med.*, 1990, **80**, 477.
Luzzatti G., Toneguiti M., *L'imaging senologico: metodiche e scelte*. SIRMN; Aggiornamento Professionale Continuativo, 1986, Edizioni Libreria Cortina, Verona.
Panzarola P., Bellucci M. C., *Radiol. Med.*, 1991, **81**, 62.
Rimondi O., Gambaccini M., Marziani M. *et al.*, *Radiol. Med.*, 1991, **81**, 69.
Rosselli Del Turco M., *Radiol. Med.*, 1991, **81**, 346.
Sickles E. A., *AJR*, 1984, **143**, 461.
Tabar L. *et al.*, *Lancet*, 1985, **1**, 829.
Toneguiti M., Della Sala S., Spiller M. *et al.*, *Radiologie*, 1990, **10**, 205-210.
Van den Bosch H., Seynaeve P., Kockx M. M., Storms J. L., *JBR-BTR*, 1990, **73**, 339-356.

ANTONIO TOTI

## MANIACODEPRESSIVA PSICOSI [v. vol. IX, col. 329]

La prima descrizione sistematica della psicosi maniacodepressiva [p. m.-d.] come entità nosografica unitaria e indipendente è dovuta ad Emil Kraepelin che, tra la fine dell'800 e i primi del '900 separò questa malattia dalle psicosi schizofreniche. L'esistenza di quadri depressivi e/o maniacali con gravi alterazioni del comportamento era nota da molto tempo prima di Kraepelin ed esistevano buone descrizioni del quadro clinico già nella medicina greco-romana. È stato tuttavia merito di Kraepelin avere identificato le caratteristiche essenziali del disturbo, rappresentate da una sequenza di episodi di tipo depressivo, di tipo maniacale o da una varia combinazione di tali episodi. Altra caratteristica essenziale della malattia era la guarigione spontanea dopo un periodo di tempo più o meno lungo di tali episodi con presenza di intervalli liberi tra di essi.

Queste caratteristiche di decorso, accanto ai tratti psicopatologici tipici della depressione o della mania, furono gli elementi essenziali per distinguere la malattia dai disturbi schizofrenici caratterizzati invece da un decorso lentamente peggiorativo con deterioramento della personalità e del comportamento.

La malattia fu inquadrata nel gruppo delle psicosi (v.) in quanto a quel tempo i quadri che arrivavano all'osservazione clinica erano quasi sempre caratterizzati da una no-





Digitized by Google

tevole gravità con sintomi di alterazione del giudizio di realtà e riduzione o assenza della coscienza di malattia.

La dicotomia kraepeliniana ha influenzato tutta la psicopatologia e la nosografia psichiatrica successiva fino a tempi molto recenti. Tuttavia, l'affinamento delle tecniche di indagine psichiatrica, la possibilità di estendere l'osservazione ad ampi gruppi di pazienti, i dati ricavati dalla genetica e dalla psicopatologia hanno suggerito un inquadramento diverso della p. m.-d. Oggi la nosografia contemporanea (DSM III R e ICD10 [v. PSICHIATRIA*]) tende a vedere questo disturbo come una malattia caratterizzata da un ampio spettro di manifestazioni cliniche solo una parte delle quali può assumere caratteristiche di tipo psicotico. Questi disturbi vengono infatti oggi classificati come «disturbi dell'umore» (v. UMORE, DISTURBI DELLO*) oppure come «disturbi affettivi». Questo inquadramento nosografico permette di includere una serie di varianti della malattia originariamente descritta da Kraepelin, che hanno caratteristiche qualitativamente e quantitativamente differenti dalla classica p. m.-d., ma che rientrano da un punto di vista nosografico e probabilmente etiopatogenetico nel medesimo gruppo di alterazioni psicopatologiche. Il gruppo dei disturbi dell'umore (o disturbi affettivi) viene così ad includere una serie di attività nosografiche che comprendono sia alterazioni dell'umore di varia natura, senza tratti psicotici, che alterazioni con disturbi deliranti e/o allucinatori che possono essere congrui o non congrui all'umore. Nell'ambito dello spettro affettivo vengono inclusi oggi anche alterazioni di tipo caratteriale e anche stati misti nei quali possono coesistere tratti di tipo maniacale e di tipo depressivo nel medesimo tempo. Nelle classificazioni odierne vengono anche presi in considerazione disturbi che hanno caratteristiche atipiche rispetto alla classica tipologia della malattia.

V. MANIACODEPRESSIVA PSICOSI (IX, 329); UMORE, DISTURBI DELLO*.

PAOLO PANCHERI

**MANO** [v. vol. IX, col. 365]

**Mano reumatoide**

*Aspetti generali*

L'interessamento della mano nell'artrite reumatoide (v.; v.*) è praticamente costante e può provocare deformazioni multiple a carico di tutti i distretti della m. stessa.

Dal punto di vista anatomopatologico l'affezione interessa dapprincipio la membrana sinoviale delle articolazioni e dei tendini. La progressione della malattia determina quindi lo stiramento o la rottura delle strutture capsulari e tendinee, e l'erosione delle superfici articolari. Ciò provoca a sua volta le tipiche deformità che compromettono progressivamente la funzione della m.

In particolare le *lesioni articolari* possono evolvere verso la distensione delle strutture capsulolegamentose con lassità che può giungere fino alla lussazione dell'articolazione. Nel caso prevalgano i fenomeni fibrosclerotici compare rigidità articolare.

Le *lesioni tendinee* sono in genere di comparsa più tardiva. La tenosinovite può provocare fenomeni di scatto conseguenti alla formazione di noduli tendinei. La distensione delle guaine può causare la lussazione dei tendini. Infine possono verificarsi rotture spontanee determinate dall'associazione di tre fattori: infiltrazione del tendine, ischemia, attrito dovuto allo scorrimento su prominenze ossee.

Le *lesioni muscolari* consistono prevalentemente in fenomeni di retrazione, particolarmente evidenti a carico degli intrinseci; questi fenomeni sono di etiologia incerta e possono essere dovuti ad un interessamento diretto delle fibre muscolari, all'ischemia o alla contrattura antalgica secondaria all'interessamento articolare. Infine vanno ricordate le paralisi muscolari secondarie alle sindromi canalicolari dell'arto superiore frequenti nell'artrite reumatoide.

*Localizzazioni specifiche*

Vengono qui di seguito trattate le varie forme di localizzazione reumatoide alle articolazioni della m., mentre per l'interessamento delle articolazioni del polso, si rimanda a quest'ultimo esponente (v. POLSO*).

1. La *localizzazione dell'artrite reumatoide alle articolazioni metacarpofalangee* è praticamente costante. Obiettivamente è presente una sinovite che provoca una tumefazione chiaramente visibile e palpabile se le articolazioni vengono lievemente flesse. L'esame clinico consente di rilevare, nelle fasi avanzate della malattia, la lussazione ulnare dei tendini estensori nei solchi tra due teste metacarpali contigue (fig. 1). Questo fenomeno è consentito dalla distruzione del cappuccio degli estensori sul lato radiale, ove esso è più sottile.

Il trattamento chirurgico di sinoviectomia delle articolazioni metacarpofalangee è indicato in caso di artrosinovite ribelle al trattamento medico e in assenza di un danno articolare evidente radiograficamente. Alla sinoviectomia può essere associato il riposizionamento dei tendini estensori ottenuto eventualmente con la tenotomia degli intrinseci ulnari. La sinoviectomia comporta inevitabilmente una modesta limitazione della flessione, ma consente la remissione del dolore in un'elevata percentuale di casi.

Con la progressione della malattia compaiono a carico delle articolazioni metacarpofalangee due deformità caratteristiche: la deformità «a colpo di vento» e la sublussazione volare. Entrambe sono avviate dalla perdita di due importanti fattori di stabilità articolare: l'azione dei muscoli intrinseci, in particolare del primo interosseo dorsale, e l'integrità dei legamenti collaterali.

La deviazione ulnare delle dita lunghe è presente anche nella m. normale ed è determinata dalla pressione del pollice nella pinza pollici-digitale e dall'inclinazione ulnare delle teste metacarpali. Tale deviazione è presente già in atteggiamento di estensione e si accentua nella presa di forza. La deformità «a colpo di vento», in presenza degli elementi predisponenti sopra ricordati, insorge ad opera di molteplici fattori: deviazione radiale del polso, lussazione ulnare dei tendini estensori, aumentato momento ulnare dei tendini flessori all'articolazione metacarpofalangea per distensione delle guaine digitali, retrazione dei muscoli intrinseci (in particolare dell'abduttore breve del V dito).

Fig. 1. M. reumatoide. Lussazione ulnare dei tendini estensori alle articolazioni metacarpofalangee, più evidente a carico del terzo dito. (Fotografia intraoperatoria).





Digitized by Google

La sublussazione volare delle articolazioni metacarpofalangee (fig. 2), abitualmente preceduta da una deformità in flessione, è causata da fattori quali la retrazione dei muscoli intrinseci e l'aumentato momento volare dei tendini flessori per distensione reumatoide delle guaine digitali.

Il trattamento delle deformità citate non può prescindere dalla considerazione che gli interventi ricostruttivi sui tessuti molli possono essere raramente praticati e sussiste in genere, al contrario, l'indicazione ad interventi di artroprotesi o di resezione-artroplastica dell'articolazione metacarpofalangea. Questi permettono abitualmente di ottenere, oltre alla scomparsa del dolore e alla ripresa della mobilità e della forza, anche un buon allineamento delle articolazioni sottoposte ad intervento.

2. La *retrazione dei muscoli intrinseci* è un fattore responsabile di alcune delle deformità della m. reumatoide e in particolare della deformità «a colpo di vento», della sublussazione volare della articolazione metacarpofalangea (v. sopra) e della deformità «a collo di cigno» delle dita, su cui torneremo più avanti. La causa della retrazione degli interossei e dei lombricali è inizialmente la contrattura antalgica provocata dal coinvolgimento delle articolazioni metacarpofalangee nell'evoluzione della malattia. In seguito, il coinvolgimento diretto dei muscoli (con la secondaria fibrosi) rende irriducibili le deformità.

La diagnosi di retrazione degli intrinseci può essere posta mediante il *test di Bunnell* che consiste nel misurare la flessione dell'articolazione interfalangea prossimale a metacarpofalangea iperestesa. Dato che l'asse degli intrinseci è posto volarmente al centro di rotazione dell'articolazione metacarpofalangea e dorsalmente al centro di rotazione dell'articolazione interfalangea prossimale, il test di Bunnell che li pone in tensione può evidenziare una limitazione della flessione di quest'ultima.

Il trattamento chirurgico della retrazione degli intrinseci consiste nella tenotomia delle bandellette laterali. A questa si può associare una tenotomia più o meno estesa del cappuccio degli estensori, che consente di eliminare uno dei fattori responsabili della sublussazione volare dell'articolazione metacarpofalangea.

3. La *localizzazione all'articolazione interfalangea prossimale* è, come quella alla metacarpofalangea, tipica della m. reumatoide. Essa può portare alla distruzione dei tessuti molli periarticolari e in particolare delle strutture tendinee che si inseriscono allo scheletro in prossimità dell'articolazione (bandelletta centrale dell'apparato estensore, flessore superficiale). Ciò provoca la comparsa di tipiche deformità delle dita lunghe («ad asola» e «a collo di cigno»).

La deformità «ad asola» consiste nella flessione dell'articolazione interfalangea prossimale associata all'iperestensione dell'interfalangea distale. Ne è causa l'erosione da parte del panno sinoviale della bandelletta centrale dell'apparato estensore che si inserisce alla base della falange intermedia. Ne deriva una limitazione progressiva dell'estensione attiva dell'articolazione interfalangea prossimale. Inoltre le bandellette laterali dell'apparato estensore tendono a scivolare lateralmente durante i movimenti di flessione dell'articolazione e ciò accentua ulteriormente la deformità. Infine l'interfalangea distale viene iperestesa in quanto l'azione dell'apparato estensore si concentra esclusivamente a tale livello.

La deformità è in un primo tempo riducibile, ma tende a divenire progressivamente rigida. Ciò ha grande importanza per l'indicazione al trattamento chirurgico, in quanto finché la deformità è riducibile passivamente è lecito attuare un intervento ricostruttivo sui tessuti molli in associazione alla sinoviectomia dell'articolazione interfalangea prossimale. In effetti sono state proposte numerose tecniche chirurgiche di ricostruzione dell'apparato estensore a livello dell'interfalangea prossimale, ma nessuna di tali tecniche è in grado di garantire costantemente un buon risultato.

Quando la deformità «ad asola» diviene irriducibile, può essere trattata mediante artrodesi o artroprotesi dell'interfalangea prossimale. La scelta tra queste due metodiche deve tenere conto di molteplici fattori che sono, tra gli altri, l'estensione dell'artrite reumatoide, l'età del paziente e la sua occupazione. Il fattore più importante è comunque la localizzazione della lesione, in quanto un secondo dito necessita di un'articolazione interfalangea prossimale molto stabile per l'esecuzione della pinza con il pollice, mentre viceversa le dita ulnari necessitano di un'interfalangea prossimale mobile per l'esecuzione della presa: nei due casi saranno preferite rispettivamente l'artrodesi e l'artroprotesi.

La deformità «a collo di cigno» consiste nell'iperestensione dell'articolazione interfalangea prossimale associata alla flessione della metacarpofalangea e dell'interfalangea distale. È già stato ricordato come questa deformità possa essere causata dalla retrazione degli intrinseci. L'artrosinovite dell'interfalangea prossimale può a sua volta causare una deformità «a collo di cigno» erodendo la placca volare e l'inserzione del tendine flessore superficiale alla falange intermedia, riducendo in tal modo l'azione del tendine e producendo l'iperestensione dell'articolazione.

In fase precoce, quando è ancora riducibile passivamente, la deformità può essere trattata correggendo l'iperestensione dell'articolazione interfalangea prossimale mediante capsulodesi o tenodesi del flessore superficiale, e associando la tenotomia degli intrinseci. Per il trattamento delle forme avanzate associate a rigidità e a distruzione articolare evidente radiograficamente, si rimanda a quanto già detto per la deformità «ad asola».

La sinoviectomia dell'articolazione interfalangea prossimale, associata ad interventi ricostruttivi sui tessuti molli, è

Fig. 2. M. reumatoide. Sublussazione volare delle articolazioni metacarpofalangee delle dita lunghe.





Digitized by Google

indicata in caso di artrosinovite ribelle alla terapia medica e in assenza di lesioni evidenti radiograficamente. I risultati a distanza di tale trattamento si sono dimostrati soddisfacenti sia per quanto riguarda il dolore che la ripresa della forza.

4. L'*interessamento dell'articolazione interfalangea distale* è raro nell'artrite reumatoide. Tale articolazione è però coinvolta secondariamente nelle deformità «a collo di cigno» e «ad asola». Nei casi inveterati con rigidità e distruzione articolare il trattamento chirurgico consiste nella stabilizzazione mediante artrodesi. Questa deve essere eseguita in flessione di circa 10° nel secondo dito e in flessione progressivamente crescente in senso radioulnare nelle altre dita, fino ai 40° del quinto dito.

5. L'artrite reumatoide può interessare una qualunque delle tre *articolazioni del pollice*. L'instabilità del pollice tipica della m. reumatoide in fase avanzata configura una deformità «a zeta» che rientra nella classificazione in quattro tipi proposta da Nalebuff.

Il *tipo I* corrisponde alla deformità «ad asola» delle dita lunghe, con flessione dell'articolazione metacarpofalangea ed iperestensione dell'interfalangea. La causa prima della deformità è la sinovite dell'articolazione metacarpofalangea con attenuazione dell'inserzione dell'estensore breve del pollice alla falange prossimale e scivolamento in direzione ulnare e volare dell'estensore lungo del pollice. La terapia consiste nella sinoviectomia dell'articolazione metacarpofalangea con inserzione dell'estensore lungo del pollice sulla base della falange prossimale. Questa tecnica è indicata se le articolazioni coinvolte sono stabili sul piano frontale e se non esiste distruzione articolare. Viceversa è indicata l'artrodesi dell'articolazione metacarpofalangea.

Il *tipo II* è clinicamente uguale al tipo I dal quale si differenzia perché il danno primitivo ha sede a livello trapeziometacarpale e produce l'adduzione del primo metacarpo; si tratta comunque di una deformità osservabile raramente.

Il *tipo III* corrisponde alla deformità «a collo di cigno» delle dita lunghe. La deformità ha origine nell'articolazione trapeziometacarpale con la retrazione del primo metacarpo in flessione e adduzione. L'articolazione metacarpofalangea va incontro ad un'iperestensione compensatoria mentre l'interfalangea è flessa. La terapia deve essere mirata innanzitutto al trattamento della patologia dell'articolazione trapeziometacarpale, e consiste in genere nella trapeziectomia seguita dall'impianto di una protesi di Swanson; è molto importante infatti il mantenimento di una mobilità articolare adeguata. È necessario inoltre correggere la retrazione del primo metacarpo mediante la disinserzione dell'adduttore del pollice o del primo interosseo dorsale o di entrambi, associando la plastica delle strutture aponevrotiche della prima commissura. Dopo questo primo tempo chirurgico è possibile correggere la deformità della articolazione metacarpofalangea e dell'interfalangea (capsulodesi o artrodesi).

Il *tipo IV* presenta, come i tipi II e III, l'interessamento primitivo dell'articolazione trapeziometacarpale, con retrazione della prima commissura, ma se ne differenzia per la deformità della metacarpofalangea e/o dell'interfalangea che presentano una deviazione radiale. La causa risiede essenzialmente nella lassità dei legamenti collaterali. Il trattamento deve essere indirizzato alla trapeziometacarpale come già descritto nel tipo III, e deve essere seguito dalla stabilizzazione delle articolazioni digitali coinvolte, mediante artrodesi.

6. La *tenosinovite dei flessori* può essere localizzata alle guaine sinoviali del polso (v.*) o delle dita. In questo secondo caso è presente tumefazione della falange basale con cute volare tesa e translucida; il movimento di flessione attiva delle dita affette può essere impacciato per l'ostacolo meccanico che la sinovia inspessita oppone allo scorrimento dei tendini, che può giungere a provocare un dito a scatto.

La rottura sottocutanea dei tendini flessori può verificarsi per gli stessi processi fisiopatologici già ricordati a proposito dei tendini estensori. I tendini interessati più comunemente sono il flessore lungo del pollice a livello del tubercolo del trapezio e i flessori del quinto dito a livello dell'uncino dell'uncinato.

Il trattamento chirurgico delle tenosinoviti dei flessori è indicato in presenza di ipertrofia sinoviale marcata con rischio incipiente di rottura sottocutanea del tendine. La sinoviectomia, oltre a rimuovere il dolore e restituire la mobilità al dito operato, previene anche le rotture spontanee e ciò è particolarmente importante in considerazione dei risultati insoddisfacenti degli innesti tendinei in questi pazienti. In presenza di una rottura sottocutanea è lecito praticare un innesto solo in caso di lesione del flessore lungo del pollice. Se la lesione interessa un flessore profondo è indicata l'artrodesi dell'articolazione interfalangea distale, mentre in caso di rottura di entrambi i flessori è indicata la trasposizione del flessore superficiale di un dito contiguo sul flessore profondo.

I sintomi secondari (fra i quali, in primo luogo, le dita a scatto e la sindrome del tunnel carpale) devono essere a loro volta trattati chirurgicamente. A questo proposito deve essere peraltro sottolineato che l'apertura della puleggia dei flessori al canale digitale aumenta il momento volare ed ulnare dei tendini ed aumenta, di conseguenza, la deformità delle articolazioni metacarpofalangee. Per tale motivo un dito a scatto in un paziente reumatoide va trattato mediante accurata sinoviectomia e, se ciò non è sufficiente, mediante la resezione di una bandelletta del flessore superficiale, lasciando per quanto possibile intatta la guaina fibrosa digitale.

**Bibliografia**


Flatt A. E., *Care of the Arthritic Hand*, 4 ed., 1983, Mosby, St. Louis.
Fowler S. B., Riordan D. C., *J. Bone Joint Surg.*, 1958, **40-A**, 1431-32.
Mikkelsen O. A., *Hand*, 1980, **12**, 149-153.
Nalebuff E. A., *Bull. Hosp. Joint Diseases*, 1968, **24**, 119-137.
Riccardi C., Pilato G., Cherubino P., *Rivista di Chirurgia della Mano*, 1986, **23** (2), 249-254.
Swanson A. B., *J. Bone Joint Surg.*, 1972, **54-A**, 435-455.
Tsuge K., Sanada Y., Nagayama Y., *Hiroshima J. Med. Science*, 1966, **15**, 103-120.
Tubiana R., *La main rhumatoide*, 1969, Monographie n. 3 du G.E.M., L'Expansion Scientifique Francaise, Paris.
Welsh R. P., Hastings D. E., *Hand*, 1977, **9**, 109-116.
Zancolli E., *Structural and Dynamic Bases of Hand Surgery*, 1968, J. B. Lippincott, Philadelphia.


GIORGIO PILATO

**MAPPE CEREBRALI**: V. ELETTROENCEFALOGRAFIA* (coll. 2493; 2511).

## MARBURG VIRUS ED EBOLA VIRUS, MALATTIE DA

I virus Marburg ed Ebola, molto simili ma antigenicamente distinti, sono causa di infezioni virali caratterizzate da febbre, esantemi, manifestazioni emorragiche, vomito, diarrea, e da una letalità altissima che nei casi primari supera il 50%.

La storia di queste virosi cominciò nel 1967, quando il primo dei due virus fu riconosciuto quale causa di una infezione di laboratorio che colpì in Germania (a Marburg, da cui il nome del virus) e in Iugoslavia 25 tecnici di laboratorio addetti alla manipolazione di scimmie verdi (*Cercopithecus aethiops*). Dopo una riapparizione in Sud-Africa (1975) con altri tre casi di malattia, di cui uno mortale, il virus di Marburg si presentò di nuovo (1980) in Africa, questa volta in Kenia, a carico di un soggetto proveniente proprio dalla zona dove erano state catturate le scimmie causa del primo focolaio epidemico; si ebbe anche un caso secondario tra il personale di assistenza, caso non





Digitized by Google

mortale a differenza del caso indice. Tutte le ricerche tese a identificare nella zona sospetta i serbatoi del virus in natura (scimmie o altri animali selvatici) rimasero senza esito. Nel 1982 venne segnalato un altro caso non mortale nello Zimbabwe e nel 1987 un nuovo caso mortale in Kenia, a carico di un soggetto proveniente sempre dalla stessa zona incriminata, vicino al confine con l'Uganda. In quest'ultimo caso si era anche prospettata la possibilità di un contagio da parte di pipistrelli, ma le ricerche in tal senso furono negative. Da allora il virus non ha più dato segni evidenti di sé (v. MARBURG, MALATTIA DI, IX, 427).

Nel 1976 una violenta ondata epidemica di febbre emorragica si sviluppò contemporaneamente nel sud del Sudan e nel nord dello Zaire, con più di 600 casi clinici e una letalità altissima, l'88% in Zaire e il 53% in Sudan. Nei due anni successivi altri due casi, di cui uno letale, di febbre emorragica da virus Ebola (dal nome di un fiume dello Zaire che scorre nella zona epicentro dell'epidemia), furono segnalati nello Zaire; nel 1979 altra fiammata epidemica, questa volta nel solo Sudan, con 34 casi di malattia e 22 decessi (v. anche: FEBBRI EMORRAGICHE VIRALI*, col. 2991).

Come in occasione della malattia di Marburg, anche in questo caso sono state studiate più di 200 scimmie e decine di altri animali selvatici, ma da nessuno di questi è stato isolato il virus o sono stati trovati anticorpi specifici. Nell'uomo, una sieropositività del 18% era stata inizialmente portata quale prova della presenza endemica del virus Ebola tra i soggetti sani viventi nelle zone di frontiera interessate dalla virosi; successivi controlli con test di conferma (*western blot* o radioimmunoprecipitazione) hanno però escluso la specificità dei primi test.

Inizialmente il virus Marburg era stato incluso nella famiglia *Rhabdoviridae*; tuttavia a seguito di successive ricerche virologiche e di biologia molecolare è stata creata una nuova famiglia, *Filoviridae* con un unico genere, *Filovirus*, in cui sono ora inclusi il virus Marburg e il virus Ebola, nei suoi due sottotipi, Sudan (Meridi) e Zaire (v. FILOVIRUS*).

I due virus appaiono pleiomorfi, potendosi presentare sia in forma rotondeggiante di 75-80 nm di diametro, sia sotto forme diverse, a U o a 6, o come lunghissimi filamenti (14.000 nm). Questi virus a RNA sono sensibili al calore (vengono inattivati a 60 °C per 30 min), ai raggi ultravioletti, alle radiazioni gamma, al propiolattone, ai comuni disinfettanti a base di ipocloriti e fenoli. Sconosciuta è la modalità di penetrazione dei virioni nelle cellule; la presenza di anticorpi specifici non sembra peraltro influenzare la capacità infettante dei due virus.

Marburg e Ebola virus appaiono altamente infettanti per scimmie, topi, cavie, hamster, determinando una forma febbrile rapidamente mortale; con la sola eccezione del sottotipo Sudan del virus Ebola (Meridi virus) che induce la comparsa di una infezione autolimitantesi, non mortale. L'esito normalmente fatale dell'infezione e il mancato riscontro di anticorpi specifici nel sangue di tali animali li ha di fatto esclusi quali *reservoir* dei virus in natura.

Il periodo di incubazione dell'infezione nell'uomo, e anche nelle scimmie, è di 1-2 settimane; il virus si riproduce rapidamente negli organi bersaglio che sono essenzialmente fegato, milza, linfonodi e polmoni. Le cellule degli organi colpiti vanno incontro a rapida necrosi, e la sintomatologia clinica è legata alle lesioni parenchimatose e alle manifestazioni emorragiche da coagulopatia da consumo che caratterizzano il quadro clinico.

Nelle fasi iniziali degli episodi epidemici la contagiosità è molto elevata, anche superiore al 50%, ma decresce rapidamente nei casi secondari con valori raramente eccedenti il 10%. Possibili sono la trasmissione aerogena e quella per via sessuale. Elevata importanza assume il contagio per mezzo di aghi, siringhe o altri materiali da medicazione infettati con secrezioni di soggetti malati. Tale via di trasmissione rende ragione dell'elevato rischio di contagio per il personale di assistenza in reparti in cui sono ricoverati soggetti infetti. L'adozione di rigide misure di prevenzione quali maschere, guanti, impiego di materiale monouso porta infatti alla rapida delimitazione dei focolai epidemici. Facili appaiono anche le infezioni di laboratorio per l'alta contagiosità di sangue, urine e altri materiali biologici.

La diagnosi è solamente clinica essendo necessarie per la diagnosi etiologica prove di laboratorio altamente sofisticate, possibili solo in centri specializzati attrezzati allo scopo e con aree ben protette data l'alta contagiosità dei materiali. La diagnosi differenziale deve prendere in considerazione tutte quelle affezioni febbrili con manifestazioni emorragiche presenti nei tropici (dengue, febbre di Lassa, *haemorrhagic fever with renal syndrome* [HFRS], febbre gialla, febbre Congo-Crimea, etc.), non trascurando la malaria e l'epatite fulminante.

Il trattamento dei malati è essenzialmente sintomatico; risultati positivi si sono avuti nei due casi in cui è stato fatto uso di siero di convalescente o di interferone. Anche l'impiego di eparina e di fattori della coagulazione sostitutivi per compensare il deficit emocoagulativo presente in questi malati sembra apportare buoni risultati. Non esiste a tutt'oggi un vaccino specifico.

**Errata-Corrige**

Alla col. 428 del vol. IX, 24ª riga dal basso: «la lunghezza di 170-300 μm» è errata; leggasi «la lunghezza di 79 nm».

**Bibliografia**
Kiley M. P. *et al.*, *J. Gen. Virol.*, 1988, **69**, 1957.
Murphy F. A. *et al.*, in Fields B. N. ed., *Virology*, 1988, Raven Press, New York.
Stansfield S. K. *et al.*, *J. Infect. Dis.*, 1982, **146**, 483.
World Health Organization, *WHO Bull.*, 1978, **56**, 247.
World Health Organization, *WHO Bull.*, 1978, **56**, 271.

MARIO NUTI

## MARFAN, SINDROME DI [v. vol. IX, col. 431]

Come è noto una proteina, la *fibrillina* (una glicoproteina ubiquitaria dello spazio connettivale; Sakai *et al.*, 1986; Hollister *et al.*, 1990) condiziona con la sua anormalità la sindrome di Marfan, malattia genetica autosomica dominante che coinvolge l'aorta, il periostio e i filamenti sospensori del cristallino.

Il mappaggio genetico aveva localizzato il gene della fibrillina sul braccio lungo del cromosoma 15. Ora studi recenti (Lee *et al.*, 1991; Maslen *et al.*, 1991; Dietz *et al.*, 1991) hanno dimostrato che difetti genici della fibrillina sono la causa della s. di M.: sono stati infatti isolati e parzialmente sequenziati due geni difettivi della fibrillina, uno posto sul cromosoma 15 e l'altro posto sul cromosoma 5 (per quest'ultimo, cfr. Lee *et al.*, 1991).

**Bibliografia**
Dietz H. C. *et al.*, *Nature*, 1991, **352**, 334.
Hollister D. W. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1990, **323**, 152.
Kainulainen K. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1990, **323**, 935.
Lee B. *et al.*, *Nature*, 1991, **352**, 330.
Maslen C. L. *et al.*, *Nature*, 1991, **352**, 334.
Sakai L. Y. *et al.*, *J. Cell. Biol.*, 1986, **103**, 2499.

RED.

**MASSAGGIO CARDIACO**: v. RIANIMAZIONE (XIII, 1319).



Digitized by Google

## MASSON, TUMORE DI

*Sin*: emangioendotelioma vegetante intravascolare; angiomatosi intravascolare; iperplasia endoteliale papillare intravascolare; proliferazione vascolare atipica intravenosa; pseudo-angiosarcoma intravascolare; proliferazioni vascolari reattive mimanti l'angiosarcoma. - F. *tumeur de Masson*. - I. *Masson's tumour*. - T. *Massonsche Gechwulst*. - S. *tumor di Masson*.

Il tumore di Masson [t. di M.] fu descritto per la prima volta da Masson nel 1923 come «emangioendotelioma vegetante intravascolare» delle vene emorroidarie. È un processo non-neoplastico o pseudo-neoplastico, benigno, che mima l'angiosarcoma e che rappresenta una forma insolita ed esuberante di organizzazione e di ricanalizzazione di un trombo.

Nella sua forma «pura» il t. di. M. si ritrova in vasi sanguigni previamente normali, comunemente localizzato nelle estremità (specie nelle dita), nel capo, nel collo e nel tronco.

La forma «mista» si forma nel contesto di lesioni vascolari preesistenti quali un emangioma cavernoso, un granuloma piogenico, una malformazione vascolare, un linfangioma cavernoso, più frequentemente negli emangiomi intramuscolari, raramente nell'encefalo ove può raggiungere grosse dimensioni.

La lesione «pura» ha un diametro medio di due centimetri, è di colore rosso-purpureo; al taglio appare multicistica, ripiena di sangue coagulato ed è circondata da una spessa capsula fibrosa. All'esame istologico questa contiene residui di muscolo liscio e di fibre elastiche del vaso preesistente; negli stadi precoci l'endotelio cresce lungo le pareti del trombo e lo suddivide in grosse papille contenenti fibrina; in seguito, si osserva una miriade di piccole papille che si proiettano nel lume e simulano la crescita a ciuffi dell'angiosarcoma; gli steli papillari sono formati da uno stroma collagene circondato da cellule endoteliali mono- o bistratificate, tondeggianti o rigonfie. Negli stadi tardivi le papille si ammassano, si fondono, formano una trama anastomotica di vasi nel contesto di uno stroma connettivo lasso.

Il t. di M. può essere differenziato dall'angiosarcoma in base ai seguenti criteri: sua localizzazione esclusivamente intravascolare, con occasionale estensione passiva nei tessuti circostanti in seguito alla rottura del vaso; mancanza di necrosi, di pleomorfismo cellulare e di mitosi atipiche; aspetto fibrinoso e/o ialino dello stelo papillare; eventuale residuo di trombo organizzato.

Il t. di M. è stato osservato in ambedue i sessi ed in tutte le età, da quella neonatale a quella avanzata.

**Bibliografia**
Enzinger F. M., Weiss S. W., *Soft Tissue Tumors*, 1988, 2 ed., Mosby, St. Louis.
Lattes R., *Tumors of the Soft Tissues*, Second Series, 1, revised, 1982, A.F.I.P., Washington, D.C.
Masson P., *Bull. Soc. Anat.* (Paris), 1923, **93**, 517.
Rosai J., *Ackerman's Surgical Pathology*, 1989, 7 ed., Mosby, St. Louis.
Sickler G. K., Langford L. A., *Clin. Neuropathol.*, 1990, **9**, 125.

CARMELA TORRE

## MASTICAZIONE [v. vol. IX, col. 446]

SOMMARIO



### Introduzione

Nel processo della *masticazione* movimenti complessi della mandibola, in successione ritmica, determinano per azione combinata delle arcate dentarie superiore e inferiore lo schiacciamento e la frammentazione di materiali alimentari introdotti nella bocca, in modo da permetterne o agevolarne la deglutizione. A quelli della mandibola si associano in perfetta coordinazione movimenti della lingua, che spingono il cibo tra le superfici masticatorie, coadiuvati da appropriati movimenti delle guance e delle labbra, lo spostano da una parte all'altra del cavo orale, ne favoriscono la commistione con il secreto salivare e, man mano che il cibo viene sminuzzato, ne aggregano, con l'aiuto della saliva, i minuti frammenti in un bolo pronto per essere deglutito.

La successione dei movimenti masticatori è preceduta dall'incisione e dalla lacerazione del materiale alimentare ad opera dei denti incisivi e dei canini quando, come non di rado accade, anziché con le mani o con l'aiuto delle posate, il boccone viene ottenuto e preso in bocca direttamente con l'atto del morso. Talora il prodotto della m. non viene deglutito, o lo è solo in parte, come quando, ad es., si mastica un frutto per estrarne e deglutirne solo il succo, espellendo poi il resto, o quando si masticano a scopo voluttuario materiali con particolari proprietà farmacologiche (tabacco, foglie di coca, khat [v.*]) o più semplicemente *chewing gum*.

Scopo precipuo del processo masticatorio nella sua espressione più strettamente fisiologica è quello di ridurre meccanicamente il cibo a dimensioni, consistenza e forma idonee per poter essere agevolmente deglutito. Si tratta di un processo di elevata complessità, che richiede uno stretto controllo da parte del sistema nervoso per assicurare l'intervento tempestivo ed esattamente coordinato delle varie componenti muscolari interessate e attuare una continua regolazione dell'attività masticatoria per adeguarla, in base alle informazioni raccolte da vari tipi di recettori dell'apparato stomatognatico, alle differenti caratteristiche dei cibi e alle modificazioni che esse subiscono nel corso dello stesso processo masticatorio.

### Movimenti e muscoli della masticazione. Il ciclo masticatorio

Le caratteristiche anatomofunzionali dell'articolazione temporomandibolare (v. TEMPOROMANDIBOLARE ARTICOLAZIONE*) permettono alla mandibola una mobilità piuttosto ampia. L'articolazione è del gruppo delle condiloartrosi e connette da ciascun lato il condilo della mandibola con la cavità glenoide e il tubercolo articolare dell'osso temporale, con l'interposizione del menisco o disco interarticolare. Questo divide l'articolazione in una parte superiore o temporodiscale e una inferiore o condilodiscale (fig. 1). Le articolazioni dei due lati costituiscono un sistema che va considerato come un unico complesso funzionale, giacché in tutti i casi i movimenti della mandibola coinvolgono nello stesso tempo entrambe le articolazioni, sono cioè bicondilari. Essi di solito risultano da un movimento combinato di rotazione e di traslazione dei condili: la prima avviene a livello della porzione condilodiscale dell'articolazione e la seconda a livello della porzione temporodiscale.

Un gran numero di studi sono stati condotti da oltre un secolo sulle posizioni e i movimenti mandibolari per il grande interesse di questo argomento, specialmente nei campi della protesi dentaria e della ortognatodonzia. Sono stati impiegati metodi di registrazione meccanica, fotografica, cinematografica e roentgencinematografica, fino alle più recenti tecniche elettroniche computerizzate che consentono un'analisi tridimensionale dei movimenti della man-



Digitized by Google

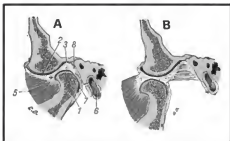



Fig. 1. Articolazione temporomandibolare in sezione sagittale. *A*: a bocca chiusa; *B*: a bocca ampiamente aperta. 1) Condilo della mandibola; 2) tubercolo articolare dell'osso temporale; 3) cavità glenoide; 4) disco interarticolare; 5) muscolo pterigoideo esterno; 6) meato acustico esterno; 7) legamento posteriore dell'articolazione temporomandibolare; 8) tessuto cellulare retrocondiloideo.

dibola, associata allo studio elettromiografico dell'attività dei muscoli interessati e alla registrazione dei contatti interdentari.

La mandibola può muoversi nel piano sagittale (abbassamento e innalzamento), nel piano orizzontale (movimenti di lateralità o in direzione anteroposteriore) e nel piano frontale (fig. 2). Questi diversi tipi di movimento possono combinarsi in vario modo.

L'abbassamento simmetrico della mandibola (movimento di apertura della bocca) avviene ordinariamente in parte per rotazione dei due condili intorno all'asse cerniera o asse bicondilare e in parte per traslazione di essi in avanti e in basso fino a collocarsi, nella posizione di massima apertura, all'apice del tubercolo articolare del temporale (fig. 1). Vi partecipano i muscoli digastrico (ventre anteriore), miloioideo e genioioideo, che abbassano la mandibola (prendendo punto fisso sull'osso ioide, trattenuto dai muscoli sottoioidei), e il muscolo pterigoideo esterno, che si inserisce sia sul condilo sia sul menisco e, contraendosi sinergicamente con il muscolo del lato opposto, li sposta in avanti (fig. 3). Nella massima apertura la distanza interincisiva (tra i bordi occlusali degli incisivi superiori e quelli inferiori) è di 5-6 cm.

Nell'innalzamento simmetrico della mandibola (chiusura della bocca), i condili vengono spostati all'indietro e in alto per un movimento combinato di traslazione e di rotazione fino a tornare nelle cavità glenoidi insieme con i dischi interarticolari. Al movimento di chiusura concorrono i muscoli massetere, temporale e pterigoideo interno (fig. 3).

La proiezione in avanti della mandibola nel piano orizzontale (movimento di *protrusione*) è provocata principalmente dalla contrazione contemporanea dei muscoli pterigoidei esterni. Partecipano anche i muscoli massetere e pterigoideo interno. Alla traslazione in avanti dei condili e dei menischi si associa in condizioni di contatto occlusale un minimo grado di rotazione condilare per poter superare l'*overbite* incisivo, con l'intervento dei muscoli abbassatori. Movimento inverso alla protrusione è quello di spostamento indietro della mandibola o *retrusione*. Vi sono impegnati bilateralmente il muscolo temporale (fasci posteriore e medio) e i muscoli sopra- e sottoioidei.

Nei movimenti di lateralità la mandibola può spostarsi a sinistra o a destra (*abduzione*) con o senza contatto occlusale. Si dice *lato di lavoro* quello verso cui la mandibola si sposta e *lato di non lavoro* o di *bilanciamento* quello controlaterale. Sono muscoli agonisti (figg. 3 e 4): *a*) i pterigoidei interno ed esterno e il fascio anteriore del temporale del lato opposto a quello verso cui la mandibola si sposta, e *b*) i fasci posteriore e medio del temporale omolaterale al lato dello spostamento. Nel movimento di lateralità il condilo del lato di lavoro ruota intorno ad un asse verticale (condilo ruotante) mentre quello controlaterale subisce, insieme con il disco interarticolare, una traslazione in direzione anteriore, mediale e caudale fino a portarsi al di sotto del tubercolo articolare (condilo orbitante). Alla rotazione

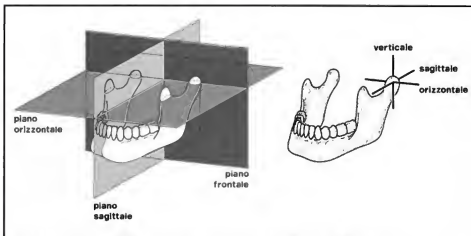



Fig. 2. *A sinistra*: i tre piani nei quali si muove la mandibola; *a destra*: assi di rotazione dei condili mandibolari.

Fig. 3. I principali muscoli masticatori, loro inserzioni e azioni prevalenti sulla mandibola. *A)* Massetere. *Inserzioni*: arcata zigomatica-corpo e ramo mandibola. *Azione*: elevazione della mandibola. *B)* Temporale. *Inserzioni*: fossa temporale e arcata zigomatica-processo coronoideo mandibola. *Azione*: *fascio anteriore* (A): elevazione; *fascio posteriore* (P): retrusione (contrazione bilaterale) o abduzione (contrazione monolaterale); *fascio medio* (M): azioni intermedie. *C)* Digastrico. *Ventre anteriore* (Va). *Inserzioni*: osso ioide-fossetta digastrica mandibola. *Azione*: abbassamento. *Ventre posteriore* (Vp). *Inserzioni*: processo mastoideo-osso ioide. *Azione*: innalzamento osso ioide. *D, E)* Pterigoideo interno (PI). *Inserzioni*: sfenoide-angolo mandibola. *Azione*: elevazione. Pterigoideo esterno (PE); S: *fascio superiore*; I: *fascio inferiore*. *Inserzioni*: sfenoide-collo condilo, capsula articolare e bordo anteriore menisco. *Azione*: protrusione e abbassamento (contrazione bilaterale); lateralità (contrazione monolaterale).

del condilo ruotante può associarsi un suo movimento di traslazione (*movimento di Bennett*). Con l'*adduzione* la mandibola torna alla posizione di riposo.

L'associazione di movimenti di lateralità con quelli di abbassamento e innalzamento della mandibola può tradursi in movimenti di rotazione di questa nel piano frontale con un percorso circolare o ellittico.

In condizioni di massima apertura della bocca, i movimenti della mandibola nel piano orizzontale sono minimi (fig. 5).

I limiti della mobilità della mandibola, imposti dalle caratteristiche anatomofunzionali delle componenti coinvolte nei vari tipi di movimento (strutture scheletriche e articolari, muscoli), sono espressi graficamente dallo *schema di Posselt* (fig. 5). Questo è tipico di ciascun individuo e segna i confini dello spazio entro cui può muoversi la mandibola,

Fig. 4. Movimenti di lateralità (abduzione) della mandibola per azione del *muscolo pterigoideo esterno*. *A)* Abduzione a sinistra per azione del muscolo destro; *B)* abduzione a destra per azione del muscolo sinistro. La contrazione sinergica dei muscoli dei due lati provoca protrusione della mandibola.





Digitized by Google

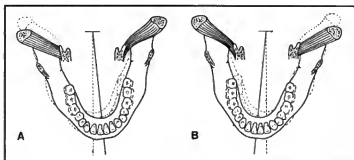
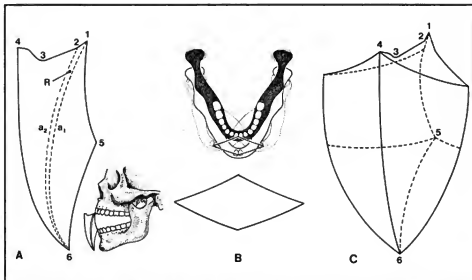



Fig. 5. Limiti dello spazio di mobilità della mandibola registrati prendendo come punto di repere il bordo occlusale degli incisivi centrali inferiori (*schema di Posselt*). *A*) Spazio nel piano sagittale; *B*) spazio nel piano orizzontale; *C*) spazio tridimensionale. 1: Massima intercuspidazione nella posizione più retrusa non forzata (occlusione centrica). 2: Occlusione abituale fisiologica. Da 2 a 3: contatto degli incisivi testa a testa. Da 3 a 4: protrusione degli incisivi inferiori oltre i superiori. 4: Massima protrusione con contatto dentario posteriore. Da 1 a 5: apertura in massima retrusione per rotazione dei condili. Oltre la posizione 5 il movimento di apertura in retrusione estrema prosegue per traslazione condilare in basso e in avanti fino alla posizione di massima apertura (6). Da 6 a 4: elevazione della mandibola in massima protrusione. R: Posizione di riposo (risultante dal tono posturale dei muscoli elevatori e in minor misura dalle proprietà viscoelastiche dei muscoli mandibolari), con spazio interocclusale di pochi millimetri a livello degli incisivi. $a_1$ e $a_2$: ambito delle traiettorie dei movimenti abituali di apertura e chiusura.

prendendo come riferimento un punto indicatore sul bordo occlusale degli incisivi centrali inferiori. Questi confini corrispondono alle posizioni e ai movimenti *limite* della mandibola e all'interno di essi questa può assumere le posizioni più varie e muoversi secondo le più diverse traiettorie.

Gli ordinari movimenti della mandibola nella m. utilizzano solo parzialmente questo spazio funzionale. Sono movimenti alternati di apertura e chiusura, associati con movimenti di lateralità, di protrusione o di retrusione, secondo un modello base o *ciclo masticatorio*, ripetuto ritmicamente in sequenza fino alla formazione di un bolo pronto per la deglutizione. Un ciclo masticatorio è costituito essenzialmente da tre fasi (fig. 6): *a*) una di *apertura*, nella quale la mandibola si abbassa dapprima lentamente (*apertura lenta*) poi più rapidamente (*apertura rapida*); *b*) una di *chiusura* che riporta velocemente in alto la mandibola (*chiusura rapida*) fino a che i denti non incontrano la resistenza del cibo; e *c*) una *fase di potenza* o *di lavoro* nella quale continua il movimento di chiusura ma più lentamente (*chiusura lenta*), per la resistenza opposta dal cibo schiacciato tra le due arcate dentarie.

Pur potendo il cibo essere masticato contemporaneamente in entrambi i lati della bocca, la m. naturale è più spesso asimmetrica, avviene cioè solo da un lato, chiamato *lato di lavoro* (quello opposto è il *lato di bilanciamento*), che in condizioni fisiologiche non è sempre lo stesso. Il boccone può essere, infatti, spostato da un lato all'altro della cavità orale, anche se nei differenti individui uno dei due lati può risultare più frequentemente utilizzato. Una m. che avvenga costantemente da uno stesso lato spesso è dovuta a condizioni patologiche (dolore, mancanza di denti, protesi incongrue, etc.) che rendono difficile o impediscono l'uso del lato opposto.

I cicli masticatori mostrano una notevole variabilità. Questa dipende sia dai caratteri del materiale che viene masticato, in particolare dalla sua consistenza fisica, dalla sua quantità e compattezza, sia da fattori individuali. Tra questi hanno un ruolo preminente le caratteristiche anatomofunzionali dell'apparato stomatognatico proprie di ciascun soggetto, e principalmente il tipo di occlusione. In ogni individuo è per lo più riconoscibile un modello di movimenti masticatori che, pur nella sua variabilità, presenta aspetti in qualche modo caratteristici; modello che si rende operante con buona coordinazione fin dai primi anni di vita, dopo il completamento della dentizione decidua. Differenze individuali ben più nette sono quelle dovute a condizioni patologiche delle varie strutture dell'apparato masticatorio (malocclusioni, affezioni dell'articolazione temporomandibolare, etc.).

Se si registrano con l'elettromiografia i movimenti di un ciclo masticatorio visti di fronte prendendo come punto di riferimento gli incisivi centrali inferiori (fig. 7), si può mettere bene in evidenza che l'abbassamento e l'innalzamento della mandibola si combinano di regola con movimenti più o meno accentuati di lateralità. Nella fase di apertura la deviazione laterale è nella maggioranza dei casi verso il lato

Digitized by Google

fase di potenza (chiusura lenta)

apertura lenta

chiusura rapida

apertura rapida

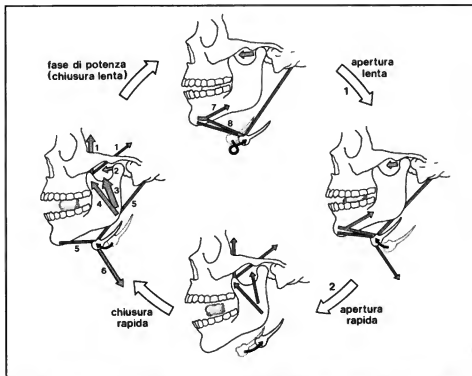
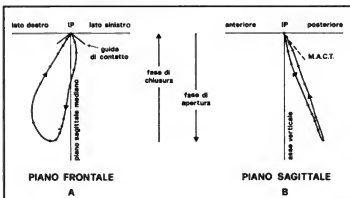



Fig. 6. Fasi del ciclo masticatorio. Le sagome a contorni continui mostrano la posizione della mandibola e dell'osso ioide all'inizio di ciascuna delle fasi del ciclo. *In punteggiato* è la posizione dell'osso ioide all'inizio della fase precedente; le *frecce nere* indicano la traiettoria del movimento dell'osso durante la fase appena compiuta. Le *frecce in grigio* mostrano quali muscoli e in che misura (dimensione delle frecce) risultano attivi all'esame elettromiografico in ciascuna fase del ciclo. 1) Muscolo temporale; 2) muscolo pterigoideo esterno; 3) massetere; 4) pterigoideo interno; 5) digastrico; 6) muscoli sottoioidei; 7) genioglosso; 8) genioioideo.

Fig. 7. «Profilo» di un ciclo masticatorio ottenuto registrando la traiettoria di un punto indicatore fissato sugli incisivi centrali inferiori. *A*) Visto di fronte; *B*) visto di lato. L'intervallo tra due punti lungo la traiettoria del movimento corrisponde a 1/24 sec. IP = posizione di intercuspidazione. Sia in A che in B la linea orizzontale corrisponde al piano occlusale. M.A.C.T. = traiettoria del movimento mandibolare in asse cerniera terminale (rotazione sull'asse intercondilare in posizione di massima retrusione). (*Da Ahlgren, modificata e ridisegnata*).

di lavoro. Il movimento di chiusura segue assai spesso una traiettoria che decorre lateralmente a quella di apertura. Nella fase di potenza normalmente la traiettoria del movimento è sempre diretta in alto e medialmente, verso la posizione di intercuspidazione massima. L'ampiezza dei movimenti mandibolari è dell'ordine di 16-20 mm in direzione verticale e di 3-5 mm in direzione laterale.

I caratteri fisici del cibo influenzano sensibilmente questo «profilo» del ciclo masticatorio. Cibi duri, ad es., che richiedono da parte dei denti un'azione triturante a tipo di «macina» rendono più marcati i movimenti di lateralità, mentre per un'azione di «taglio» è più nettamente prevalente la componente verticale dei movimenti masticatori. La durata di un ciclo varia all'incirca tra 600 e 1100 msec. Cibi viscosi o duri rendono più lunga la durata del ciclo, che aumenta anche con le dimensioni del boccone. La frequenza dei cicli è ordinariamente di 1-2/sec, ma è anche essa ampiamente variabile. La velocità dei movimenti è diversa nelle differenti fasi del ciclo, ed è uno dei caratteri che le contraddistinguono (v. sopra). Si calcola che la velocità media è di 7-8 cm/sec. Le velocità più alte si registrerebbero a circa la metà dei movimenti di apertura e di chiusura. La decelerazione più marcata si osserva quando la mandibola sta per raggiungere la posizione intercuspidale, nella quale resta poi ferma per circa 100 msec prima che abbia inizio il ciclo successivo. Nei movimenti di macina la velocità è minore che in quelli di taglio.

Il profilo di un ciclo masticatorio registrato di lato, nel piano sagittale, avendo sempre come punto di riferimento gli incisivi centrali inferiori, mostra che l'abbassamento e l'elevazione della mandibola seguono ordinariamente traiettorie tra loro molto più vicine che nel piano frontale, spesso assai prossime a sovrapporsi o che addirittura si incrociano. Frequentemente l'apertura inizia con una modesta protrusione associata al movimento di lateralità rilevabile nel piano frontale, ciò che rende possibile un'azione di macina anche in questa prima fase. Il profilo di solito non varia molto né con il tipo di cibo né da un soggetto all'altro.

Nella fase di potenza le superfici occlusali dei denti antagonisti possono venire a contatto fino alla massima intercuspidazione, oppure no, a seconda del grado di resistenza opposta dal cibo. I tempi e le modalità del contatto occlusale sono stati studiati mediante dispositivi miniaturizzati radiotrasmittenti applicati ai denti in modo da non disturbare, se non in misura trascurabile, i movimenti masticatori durante la registrazione. Nei primi cicli di una sequenza masticatoria i contatti sono assenti o rari, a meno che non siano assai scarse la consistenza e la compattezza del materiale da masticare. Man mano che questo viene frammentato e ammorbidito con l'intervento della saliva, essi diventano più frequenti, fino a verificarsi alla fine di ogni ciclo, e si fanno progressivamente più profondi fino alla occlusione completa. Il contatto in un primo momento è mobile, avviene cioè tra le superfici occlusali dei denti antagonisti

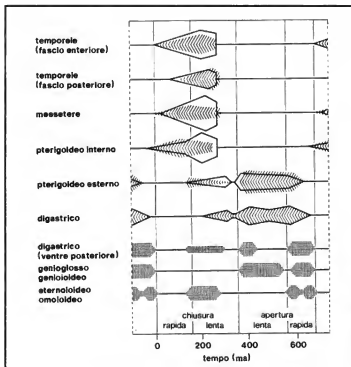



Fig. 8. Schemi dell'attività elettrica dei muscoli della m. durante un ciclo masticatorio. I tracciati *in neretto* sono tratti da osservazioni su soggetti umani, quelli *in punteggiato sottile* da esperimenti su animali. Nei primi, gli spazi delimitati dalle linee nere continue rappresentano l'attività elettromiografica dei muscoli del lato di lavoro, quelli a tratteggio diagonale l'attività dei muscoli del lato di bilanciamento.





Digitized by Google

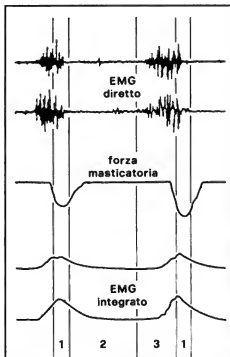



Fig. 9. Registrazione simultanea dell'EMG dei muscoli massetere e temporale, delle forze occlusali e dei movimenti della mandibola dell'uomo. *Dall'alto in basso*: EMG diretto del temporale e del massetere; forza della m.; EMG integrato del temporale e del massetere. I numeri in basso indicano le fasi dei movimenti mandibolari: 1, fase occlusale; 2, fase di apertura; 3, fase di chiusura. L'attività elettromiografica massimale si registra immediatamente prima del contatto interdentario e precede di poco (40 msec) il massimo valore della forza masticatoria, il quale si raggiunge durante la fase occlusale (70 msec dal suo inizio). La forza si protrae oltre la fase occlusale e l'attività elettromiografica. (*Da Ahlgren e Öwall, modificata e ridisegnata*).

ancora in movimento, che si affrontano con le loro cuspidi e creste sminuzzando o triturando il cibo, poi diventa statico allorché i denti raggiungono la massima intercuspidazione. Il contatto mobile è più ampio nei movimenti masticatori a tipo di macina. L'inizio e la fine del contatto non avvengono per tutti i denti allo stesso tempo: in un primo momento vengono in contatto solo i molari, poi anche gli altri denti e infine restano per breve tempo in contatto solo gli incisivi prima che inizi il ciclo successivo. Nel lato di bilanciamento il contatto si stabilisce prima, circa 30 msec, che nel lato di lavoro.

In ogni fase del ciclo non è mai un solo muscolo o paio di muscoli a intervenire ma, come si rileva dall'indagine elettromiografica, ne risultano sempre coinvolti diversi in un complesso e coordinato modello di attività. I muscoli abbassatori della mandibola (pterigoideo esterno, digastrico, miloioideo) cominciano ad attivarsi già nella fase di potenza, per diventare ancora più attivi all'inizio di quella di apertura (fig. 8). Di solito il muscolo pterigoideo esterno di un lato prevale su quello controlaterale, determinando il movimento di lateralità della mandibola che all'inizio, generalmente, si accompagna all'apertura della bocca. Dei muscoli elevatori, il primo a entrare in attività, già immediatamente prima che inizi la fase di chiusura, è il pterigoideo interno. Ad esso seguono il muscolo temporale (prima il fascio anteriore, poi quello posteriore) e il massetere. Nella fase di potenza i muscoli elevatori, specie quelli del lato di lavoro, raggiungono i più alti livelli di attività. Verso la fine di questa fase la loro contrazione, dapprima isotonica, diventa, più o meno rapidamente, isometrica e ciò può avvenire anche prima che si stabilisca il contatto tra le superfici occlusali dei denti se il cibo schiacciato tra le due arcate dentarie è di consistenza sufficientemente elevata. Quando avviene il contatto, questo si protrae per parecchi msec anche dopo che l'attività elettromiografica dei muscoli elevatori è cessata (fig. 9). La massima parte della forza di occlusione è generata dal massetere e dal pterigoideo interno.

Con le moderne tecniche di immagine (TC, TRMN) è

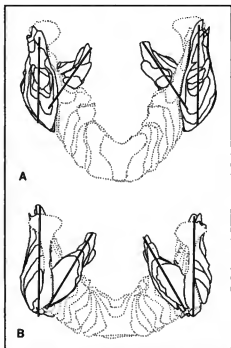



Fig. 10. Rappresentazione schematica delle linee di azione dei muscoli masseteri e pterigoidei interni di soggetto umano tracciate a partire dalle sagome dei rispettivi muscoli ricostruite da immagini ottenute mediante tomografia a risonanza magnetica nucleare (TRMN). *A*) Veduta frontale. *B*) Veduta dorsale. In *linee punteggiate* la sagoma della mandibola. (*Da Koolstra et al., modificata e ridisegnata*).





Digitized by Google

possibile oggi determinare *in vivo* con notevole accuratezza la forma e l'orientamento dei vari muscoli masticatori nello spazio tridimensionale e calcolare le loro linee di azione, lungo le quali si sviluppano le forze di contrazione (fig. 10).

La forza sviluppata nella normale m. durante la fase di potenza può essere misurata mediante piccoli trasduttori meccanoelettrici (*strain-gauge*, piezoelettrici) incorporati in intarsi o in strutture protesiche. Sulla superficie occlusale di un molare la forza effettivamente esercitata risulta dell'ordine di 5-15 kg, variabile a seconda degli individui e dei caratteri del cibo. Nel lato di lavoro la forza è di maggiore intensità e durata che nel lato di bilanciamento. Si tratta di valori ben inferiori a quelli della forza massimale del morso, misurabile in condizioni statiche, ad arcate dentarie ferme, interponendo tra queste un adatto dinamometro (*gnatodinamometro*). In queste condizioni, infatti, sono stati registrati a livello dei molari valori di 45-50 kg, che si riducono a circa 1/3 per i premolari e gli incisivi. La massima forza viene esercitata dal I molare. In popoli di paesi tecnologicamente non molto progrediti, abituati ad alimenti poco elaborati che richiedono una più vigorosa attività masticatoria, la massima forza mordente a livello dei molari può raggiungere valori dell'ordine di 150 kg (ad es. negli Eschimesi).

Nel corso della m. ai movimenti della mandibola se ne accompagnano altri, che interessano la lingua, la muscolatura della faccia, l'osso ioide, e talora anche l'intero capo. Come già si è accennato all'inizio, la lingua nella m. provvede a spingere a più riprese il cibo tra le arcate dentarie, a trasferirlo da una superficie occlusale ad un'altra perché venga adeguatamente sminuzzato, e a raccoglierne i frammenti già sufficientemente masticati e impastati con la saliva per conglomerarli in un bolo destinato a essere deglutito. La lingua può coadiuvare la funzione masticatoria anche in altro modo: con un'azione diretta di schiacciamento sul cibo, comprimendolo con forza contro la volta del palato. Questo complesso ruolo della lingua nella m. richiede improvvise modificazioni di forma e rapidi e precisi movimenti dell'intero organo, per azione dei suoi muscoli sia intrinseci che estrinseci, azione finemente regolata ed esattamente coordinata con quella dei muscoli della mandibola. Idonei movimenti delle guance durante la m. concorrono a riportare sotto le arcate dentarie il cibo sfuggito nel vestibolo della bocca o viceversa, nel caso che la sua quantità sia eccessiva, provvedono ad accoglierne temporaneamente una parte nella zona del vestibolo fino a quando non potrà essere sottoposta anch'essa all'azione dei denti. Movimenti delle labbra collaborano a risospingere il cibo tra le arcate dentarie e ne impediscono la fuoriuscita dalla bocca.

Accompagnano la m. movimenti dell'osso ioide dovuti all'intervento dei muscoli sopraioidei e sottoioidei nelle diverse fasi del ciclo masticatorio (v. sopra, fig. 6). Si tratta di movimenti che tracciano nel piano sagittale un'orbita grossolanamente ellittica e sono correlati con movimenti della mandibola e della lingua.

Se i movimenti di apertura e di chiusura della bocca sono piuttosto ampi, ad essi possono associarsi movimenti di estensione e rispettivamente di flessione del capo sulla colonna cervicale, specie se si debbano masticare cibi di consistenza particolarmente dura.

**Controllo nervoso della masticazione**

La m. coinvolge una molteplicità di muscoli per un complesso di movimenti che interessano nello stesso tempo varie strutture (mandibola, lingua, guance, labbra), secondo un determinato modello che si ripete ritmicamente ma che deve potersi adattare ai differenti caratteri dei vari cibi, caratteri che oltre tutto sono suscettibili di modificarsi nel corso della stessa m. Tutto ciò implica l'esistenza di precisi meccanismi nervosi che diano inizio alla sequenza dei cicli masticatori e ne assicurino la continuità per il tempo necessario, coordinando il funzionamento delle diverse componenti del modello motorio e regolandone continuamente l'attività secondo le informazioni provenienti dalla periferia stomatognatica. La conoscenza di questi meccanismi è tuttora incompleta pur essendo stati conseguiti nei recenti anni sensibili progressi.

La m. viene usualmente avviata nell'uomo dall'introduzione volontaria del cibo nella bocca e continua poi in una successione ritmica di cicli, di solito senza impegno della volontà.

Movimenti masticatori ritmici possono essere promossi dalla stimolazione di diverse strutture a vari livelli dell'encefalo: zone della corteccia sensitivomotoria e del sistema limbico (in particolare dell'amigdala), capsula interna, gangli della base, ipotalamo, tronco encefalico. Tuttavia, la constatazione che movimenti di questo tipo si osservano anche dopo decerebrazione (intervento che rimuove tutte queste strutture tranne la porzione del tronco encefalico costituita dal ponte e dal bulbo) fa ritenere che il meccanismo fondamentale di integrazione dell'attività masticatoria debba essere localizzato nella regione bulbo-pontina e che nell'animale integro esso possa venire attivato dalla stimolazione di una delle aree corticali o sottocorticali suddette. Non si conosce ancora chiaramente quali siano e come funzionino i circuiti neuronici di questo meccanismo bulbopontino, chiamato anche *centro della m.* In questa regione del tronco encefalico si trovano i nuclei motori del V, VII e XII nervo cranico, che comandano rispettivamente i muscoli per i movimenti mandibolari (v. TRIGEMINO NERVO), per i movimenti delle guance e delle labbra (v. FACCIALE NERVO), e per quelli della lingua (v. IPOGLOSSO NERVO), e si trova altresì il complesso dei nuclei sensitivi cui affluiscono (principalmente attraverso il V, ma anche con il VII, IX e X nervo cranico) le afferenze dal territorio oro-facciale.

Per il fatto che nell'animale decerebrato è possibile evocare in via riflessa, per stimolazione di recettori oro-facciali, risposte di apertura e chiusura della mandibola, si è sostenuto che la successione ritmica dei movimenti della m. fosse semplicemente espressione di una concatenazione di riflessi mandibolari alternati di apertura e chiusura. Secondo questa teoria, generalmente accettata fino ad anni recenti, la presenza del cibo nella bocca provocherebbe per stimolazione di meccanocettori orali il riflesso di apertura, dovuto a contrazione dei muscoli abbassatori della mandibola e simultanea inibizione degli elevatori, riflesso che a seguito dello stiramento di questi ultimi (prodotto dall'abbassamento della mandibola), e conseguente attivazione dei loro recettori fusali, susciterebbe a sua volta il riflesso di chiusura per contrazione dei muscoli elevatori e inibizione degli antagonisti (v. anche TRIGEMINO NERVO). Con la chiusura, il cibo tornerebbe a premere sui meccanocettori provocando perciò una nuova risposta riflessa di apertura, che evocherebbe ancora un riflesso di chiusura, e così via fino a quando non resti nella bocca del cibo in grado di provocare una stimolazione efficace. In condizioni normali, l'avvio volontario della m. verrebbe promosso da segnali che, dall'area masticatoria della corteccia motoria, giungerebbero al nucleo motore del trigemino per attivare i motoneuroni dei muscoli abbassatori della mandibola e inibire gli antagonisti dando così inizio alla sequenza dei riflessi. Ai movimenti della mandibola si accompagnerebbero, in una serie di riflessi associati, quelli della lingua, delle guance e delle labbra per il coinvolgimento dei nuclei dell'ipoglosso e del facciale.

Varie osservazioni, tuttavia, fanno escludere che il meccanismo nervoso della m. possa essere ridotto semplicemente ad una catena di riflessi mandibolari alternati di apertura e di chiusura. Si è visto, ad es., che la soppressione delle afferenze fusali dei muscoli ele-



Digitized by Google

vatori non compromette in misura significativa i normali movimenti masticatori. I caratteri delle risposte di apertura e chiusura della mandibola ottenute in via riflessa sono poi ben diversi da quelli di una successione ritmica di cicli masticatori. Una delle principali differenze è data dal fatto che queste risposte non sono in grado di autoperpetuarsi in sequenza giacché si esauriscono in breve tempo, di solito già dopo un solo ciclo di apertura e chiusura. Inoltre, la fase di chiusura si arresta quando il cibo spinto a contatto delle arcate dentarie e delle pareti del cavo orale ne stimola i meccanocettori, suscitando il riflesso di apertura, al contrario di quanto accade nel ciclo masticatorio in cui al momento del contatto l'azione dei muscoli elevatori anziché interrompersi si continua più energicamente nella successiva fase di potenza.

Valide ragioni fanno oggi ritenere che la successione ritmica dei movimenti masticatori sia invece determinata da un meccanismo troncoencefalico ad attività oscillatoria, che metta in azione alternativamente in appropriata sequenza i differenti muscoli per l'abbassamento e l'elevazione della mandibola e per i movimenti associati della lingua e della faccia. Questo meccanismo, che viene chiamato «generatore centrale», è responsabile del modello e del ritmo di base dei cicli masticatori ed ha un funzionamento automatico, che non richiede necessariamente l'intervento di *input* da livelli superiori dell'encefalo o da recettori periferici, giacché il generatore ha la capacità di funzionare, con una sua frequenza propria, anche dopo decerebrazione o soppressione delle afferenze esterocettive e propriocettive dal territorio stomatognatico. In condizioni normali però la sua attività è sottoposta al controllo di centri corticali e sottocorticali e può essere modificata da afferenze provenienti dalla periferia (fig. 11). È un meccanismo programmatore automatico analogo a quello, più complesso, che controlla i movimenti della locomozione.

Non si conosce l'esatta collocazione di questo meccanismo troncoencefalico, ma sembra che almeno alcuni suoi elementi abbiano sede nella formazione reticolare mediale del bulbo. In questa zona sono stati individuati neuroni in connessione monosinaptica con i motoneuroni trigeminali (v. anche TRIGEMINO NERVO) e la stimolazione di essa evoca effetti, bilaterali e di breve latenza, di iperpolarizzazione (inibizione) dei motoneuroni del muscolo massetere e simultanea depolarizzazione (eccitazione) di quelli del digastrico, effetti attribuiti all'attivazione di due distinti gruppi di neuroni della formazione bulboreticolare.

La porzione laterale della corteccia motoria è in connessione monosinaptica con i neuroni di questa zona della reticolare, e attraverso questa via può esercitare il suo controllo sull'attività del generatore centrale. Si è supposto che anche l'avvio volontario della m. possa effettuarsi per questa stessa via, ma il ruolo della corteccia motoria a questo riguardo non è del tutto chiaro, ed essa appare coinvolta piuttosto nella coordinazione e nel controllo fine dei movimenti masticatori. Infatti, l'asportazione della porzione laterale della corteccia motoria da entrambi i lati provoca solo in un primo tempo soppressione della m., che poi ricompare anche se in forma meno coordinata.

Il modello e il ritmo di base generati dal meccanismo centrale possono essere ampiamente modificati da afferenze periferiche, principalmente dalle informazioni relative ai differenti caratteri dei cibi trasmesse dai vari recettori dell'apparato stomatognatico (tattili, meccanocettori del legamento periodontale e dell'articolazione temporomandibolare, recettori fusali). Questo controllo a *feedback* può indurre, come si è visto, anche nel corso stesso dell'attività masticatoria, modificazioni che interessano sia il «profilo» dei cicli, sia la loro durata e frequenza, come anche la velocità dei vari movimenti masticatori e la forza di contrazione dei muscoli elevatori della mandibola. Una parte assai rilevante nella regolazione della forza di occlusione hanno senza dubbio le informazioni dai recettori periodontali. Le varie afferenze possono agire sia a livello troncoencefalico sia informando centri superiori corticali o sottocorticali, che in base alle segnalazioni ricevute intervengono a modificare l'attività del programmatore centrale.

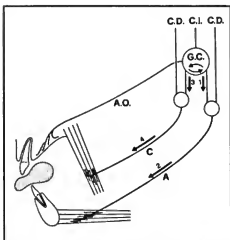



Fig. 11. Schema del meccanismo generatore centrale nel sistema di controllo della m.; G.C., generatore centrale; C.I., *input* corticale indiretto ai motoneuroni bulbari via G.C.; C.D., *input* corticale diretto ai motoneuroni bulbari; A e C, motoneuroni per l'apertura e, rispettivamente, per la chiusura della mandibola; A.O., afferenze orali capaci di attivare G.C. Gli *input* ai motoneuroni sono sia eccitatori che inibitori. (*Da Lund, modificata e ridisegnata*).

**Ruolo della masticazione nel processo della digestione**

Scopo principale della funzione masticatoria è certamente quello di produrre meccanicamente trasformazioni delle caratteristiche fisiche del cibo in modo e in misura tali da permettere una sua facile deglutizione. L'effettiva importanza di questa funzione meccanica ai fini della digestione dipende evidentemente dalla natura del cibo, dalla sua consistenza e dalla grandezza del boccone. Essa risulta inoltre più o meno fortemente condizionata dai vari trattamenti e manipolazioni cui possono venire sottoposti i cibi prima di essere consumati (trasformazioni ad opera dell'industria alimentare, procedimenti culinari, uso delle posate, ecc.). Ciò vale in particolare per le popolazioni tecnologicamente più progredite, nelle quali infatti anche lo sviluppo dell'apparato masticatorio è venuto da tempo ridimensionandosi.

Il ruolo della m. non si esaurisce, però, nella riduzione meccanica del cibo in minute particelle. Già questo effetto determina un forte aumento della superficie del materiale alimentare che viene ad essere esposta all'azione degli enzimi digestivi. Ma la m. inoltre prolunga il soggiorno del cibo nel cavo orale e agevola il suo mescolamento con la saliva. Ciò rende più protratta ed efficace l'azione della ptialina nella bocca sull'amido degli alimenti (azione che si continuerà per un certo tempo anche dopo che il bolo avrà raggiunto lo stomaco), e permette altresì di apprezzare meglio il sapore dei cibi. Quest'ultimo effetto, a parte le sue




Digitized by Google

**TAB. I. EFFETTI DELLA MASTICAZIONE SULLA DIGESTIONE DI VARI TIPI DI CIBI**

(da Farrell)

| Gruppo 1 | Gruppo 2 | Gruppo 3 |
|---|---|---|
| Maiale arrosto o fritto | Pollo arrosto | Lardo di manzo fritto o in umido |
| Pancetta fritta | Agnello in umido | Merluzzo fritto o bollito |
| Manzo arrosto, fritto o stufato | | Salmone affumicato fritto |
| Montone arrosto o in umido | | Uova sode |
| Agnello arrosto o fritto | | Riso bollito |
| Patate bollite o fritte | | Pane bianco o integrale |
| Piselli bolliti | | Formaggio «Cheddar» |
| Carote bollite | | |

implicazioni psichiche legate alla tonalità affettiva delle sensazioni gustative, ha anche importanza per l'eccitazione riflessa della secrezione salivare e di quella gastrica.

Gli studi sull'importanza che la m. ha per i processi digestivi nell'uomo, e in particolare nell'uomo delle società sviluppate, non hanno tuttora portato a conclusioni definitive, anche se per la digestione di cibi solidi il suo ruolo appare in numerosi casi assai rilevante, se non essenziale, e in molti altri quanto meno favorente. In effetti, l'importanza della funzione masticatoria per il corso successivo dei processi digestivi dipende, come si è accennato prima, dal tipo di alimento. Nella tab. I sono riportati vari tipi di cibi distinti in 3 gruppi, in base ai risultati di uno studio sulla loro digeribilità con o senza l'intervento della m. La digeribilità nelle due condizioni è stata saggiata facendo ingerire a volontari, per ciascuno dei cibi in esame, una coppia di sacchetti di maglia di cotone legati insieme e contenenti entrambi una stessa quantità di cibo, ma uno previamente masticato e l'altro no, e analizzando poi le differenze tra il contenuto dei due sacchetti recuperati dalle feci. I cibi del gruppo 1 lasciano un abbondante residuo indigerito se non vengono masticati e un qualche residuo anche se vengono masticati. I cibi del gruppo 2 possono lasciare qualche residuo indigerito se non sono masticati, ma si digeriscono bene se vengono masticati. Quelli del gruppo 3 sono ben digeriti con o senza l'intervento della m. La digeribilità di questi stessi cibi è stata anche saggiata in individui con efficienza masticatoria ridotta, portatori di protesi dentali parziali o totali. È stato osservato che una perdita dell'efficienza masticatoria fino al 25% del valore normale non compromette in misura apprezzabile la possibilità di digerire i cibi saggiati.

L'*efficienza masticatoria* esprime la capacità di frammentazione e triturazione posseduta dall'apparato masticatorio. Può essere misurata con vari metodi; uno dei più usati consiste nel far masticare al soggetto in esame, per un determinato tempo o per un certo numero di cicli, una quantità standard di un materiale test e nel valutare il grado di suddivisione finale del materiale masticato, facendolo passare attraverso una serie di setacci a maglie di differente diametro e misurando così le dimensioni delle particelle in cui è stato ridotto. L'efficienza masticatoria si esprime in percentuale del valore normale e dipende principalmente dalle condizioni della dentatura e dalle modalità di occlusione. È stato dimostrato che essa è in migliore correlazione con la superficie totale di contatto occlusale che non semplicemente con il numero dei denti. Essa risulta più o meno compromessa in varie condizioni di patologia dell'apparato stomatognatico. Per sostituzione della dentatura naturale con protesi totali, l'efficienza masticatoria può ridursi a 1/3 o perfino a 1/6 del valore normale.



L'efficienza masticatoria varia anche con l'età; nel bambino va aumentando regolarmente fino a raggiungere ai 10 anni di età il 75% del valore dell'adulto. Dal 10° al 13° anno essa di solito diminuisce, presumibilmente per turbe masticatorie in rapporto con l'eruzione dei premolari e del II molare. A circa 16 anni di età raggiunge di solito valori intorno a quelli dell'adulto.

Pur considerando che la reale importanza della funzione masticatoria nella digestione è tuttora oggetto di discussione e che spesso per una completa digestione dei cibi in uso nelle moderne società tecnologicamente progredite la m. può essere sufficiente anche in misura assai ridotta o addirittura può non essere assolutamente necessaria, è certo che in generale un'adeguata m. dei cibi per i suoi effetti diretti e indiretti (sulle secrezioni salivare e gastrica, sull'attività di enzimi, etc.) non può, pur nei casi in cui non appare essenziale, quanto meno non migliorare il processo della digestione e renderlo più agevole e meno laborioso.

**Bibliografia**


Ahlgren J., Öwall B., *Arch. Oral Biol.*, 1970, **15**, 271-280.

Ahlgren J., *Masticatory Movements in Man*, in Anderson D. J. e Matthews B., *Mastication*, 1976, John Wright & Sons, Bristol, 119-130.

Ash M. M. jr., *Wheeler's Dental Anatomy, Physiology and Occlusion*, 1984, Saunders, Philadelphia.

Bauer A., Gutowski A., *Gnatologia. Introduzione teorica e pratica*, 1984, Piccin, Padova.

Bradley R. M., *Fisiologia orale*, 1988, Piccin, Padova.

Byrd K. E., *Arch. Oral Biol.*, 1988, **33**, 209-215.

Carlsson G. E., *Bite Force and Chewing Efficiency*, in Kawamura Y., *Frontiers of Oral Physiology. I. Physiology of Mastication*, 1974, Karger, Basel, 265-292.

Farrell J. H., *Br. Dental J.*, 1956, **100**, 149-155.

Goodson J. M., Johansen E., *Analysis of Human Mandibular Movement*, 1975, Karger, Basel.

Hiiemae K., Thexton A. J., *Mastication*, in Osborn J. W., Armstrong W. G. e Speirs R. L., *A Companion to Dental Studies*, vol. I, Book I, 1982, Blackwell, Oxford, 565-578.

Jenkins G. N., *The Physiology and Biochemistry of the Mouth*, 1978, Blackwell, Oxford.

Kawamura Y., *Frontiers of Oral Physiology. I. Physiology of Mastication*, 1974, Karger, Basel.

Koolstra J. H. *et al.*, *Arch. Oral Biol.*, 1990, **35**, 549-556.

Lund J. P., *Evidence for a Central Neural Pattern Generator Regulating the Chewing Cycle*, in Anderson D. J. e Matthews B., *Mastication*, 1976, John Wright & Sons, Bristol, 204-212.

Luschei E. S., Goldberg L. J., *Neural Mechanisms of Mandibular Control: Mastication and Volontary Biting*, in Brookhart J. M., Mountcastle V. B., *Handbook of Physiology*, Sect. I, *Nervous System*, 1981, II, Part 2, Williams & Wilkins, Baltimore.

Manzoni T., *Fisiologia dell'apparato stomatognatico*, 1982, USES, Firenze.

Pini P., *Schemi introduttivi alla gnatologia clinica*, 1979, Ed. Saccardin, Bologna.

Wood W. W., *J. Prosth. Dent.*, 1987, **57**, 222-232.


PIETRO D'ARCANGELO

## MATERIALI DENTARI

F. *matériaux dentaires*. - I. *dental materials*. - T. *Dentalstoffe; Zahnazztlichewerkstoff*. - S. *materiales dentales*.

SOMMARIO



### Classificazione

I materiali dentari vengono in genere suddivisi a seconda degli scopi di utilizzo e della composizione in: *a*) *materiali*



Digitized by Google

*per profilassi della carie*: sali di fluoro, resine per sigillature; *b*) *materiali per ricostruzione*: compositi e amalgami (v. AMALGAMA*); *c*) *materiali per parodontologia*: Gore-Tex®, Sartorius® e Millipore® per membrane microporose, colla di fibrina, materiali ceramici di riempimento, cementi chirurgici; *d*) *materiali per impronte e modelli*: idrocolloidi reversibili e non reversibili, gomme polietere, siliconiche e al polisolfuro, e infine gessi (v. GESSO*); *e*) *materiali per protesi*: leghe nobili e non nobili, resine acriliche, porcellane e cementi (v. CEMENTI*); *f*) *materiali per ortodonzia*: resine acriliche a freddo, ceramiche ed acciai per *brackets*, leghe al cromo-cobalto, al nichel-titanio e al beta-titanio per fili ortodontici e Teflon® per la ricopertura estetica dei fili; *g*) *materiali per endodonzia*: devitalizzanti, sostanze medicamentose, materiali per l'otturazione canalare.

**Materiali per la profilassi della carie**

Le misure di prevenzione primaria della carie dentale (v.*) mirano alla riduzione dell'incidenza di questa patologia odontoiatrica e prevedono l'uso di alcuni composti tra cui i sali di fluoro e i sigillanti.

*Sali di fluoro*

Questi prodotti giocano un ruolo determinante nella prevenzione della carie. L'azione cariostatica del fluoro può esplicarsi in due periodi della vita e con due modalità: durante la maturazione dei denti (fluoroprofilassi sistemica) o dopo l'eruzione dei denti (fluoroprofilassi topica).

La caratteristica principale del fluoro consiste nella capacità di combinarsi con la molecola fondamentale dello smalto, l'apatite, e di trasformare quindi l'idrossiapatite in fluoroapatite, più resistente alla carie.

La fluoroprofilassi sistemica può essere attuata con la fluorazione delle acque potabili (0,07-1 ppm), del latte, o del sale da cucina o attraverso l'ingestione quotidiana di compresse di fluoro in dosi che dovrebbero essere relative alla quantità di oligoelemento presente nell'acqua e comunque non superiore ad 1 mg/*die*.

I sali di fluoro sono nati, invece, per consentire l'applicazione topica dell'elemento sui denti. I principali sono: il fluoruro di sodio, il fluoruro stannoso e il fluoruro fosfato acidulato (APF). Questi principi attivi possono svolgere la loro azione topica in quanto sono contenuti in alcuni preparati per l'igiene orale professionale, gel e vernici, o domiciliare (dentifrici e collutori).

*Sigillanti*

Si impiegano per la profilassi della carie occlusale dei molari e premolari, i quali presentano solchi e fossette molto pronunciati. La tecnica della sigillatura dei solchi e delle fossette prevede l'applicazione di materiale adesivo liquido sulla superficie occlusale del dente, precedentemente mordenzata con ac. ortofosforico al 37% per 30 sec, che viene polimerizzato con luce (per mordenzatura si intende la parziale demineralizzazione da parte dell'ac. ortofosforico degli strati più superficiali dello smalto: la mordenzatura dello smalto determina la formazione di microporosità, della profondità tra 25 e 50 µm). Questo film adesivo crea una barriera fisica contro l'attacco carioso. I più comuni sigillanti sono a base di BIS-GMA (bisfenolo-glicidil-metacrilato).

**Materiali da ricostruzione**

I materiali odontoiatrici per la ricostruzione dei denti sono gli amalgami e i compositi.

*Compositi*

Il termine *composito* sta ad indicare una combinazione sui 3 piani dello spazio di almeno due materiali, chimicamente diversi, con una interfaccia che separa i due componenti. Tale combinazione se correttamente eseguita permette di ottenere un materiale con caratteristiche superiori a quelle dei due singoli componenti.

Gli elementi che costituiscono i compositi per uso odontoiatrico sono: la *matrice organica* o *resina di base*, che ha una scarsa resistenza alle forze meccaniche; il *riempitivo* o *fase dispersa*, con un'alta resistenza alle forze meccaniche; l'*agente legante* o *interfaccia resina-riempitivo*, che determina un legame forte e duraturo fra matrice e riempitivo.

Le resine composite hanno fatto la loro apparizione in odontoiatria conservativa nel 1957, anno io cui Bowen ottenne la sintesi di un monomero dimetacrilato (BIS-GMA) dopo aver fatto reagire il bisfenolo (BIS) con 2 molecole di glicidil-metacrilato (GMA); questo monomero, da solo o in combinazione con altri monomeri (ad es. TEGDMA), costituisce la matrice organica o resina di base.

L'agente legante, il *silano*, permette la realizzazione di ponti di unione fra la matrice ed il riempitivo.

Il riempitivo (*filler* degli anglosassoni) migliora la resistenza all'usura della resina e può essere costituito da particelle di quarzo, silice pirogenica, borosilicato, vetro, vetrosilicato di bario, di stronzio, di zinco e zirconio tetragonale.

In base alle dimensioni di tali particelle, i compositi possono essere distinti in: *macroriempiti a grandi particelle*; *macroriempiti a piccole particelle*; *microriempiti omogenei* (non utilizzabili nella pratica clinica); *microriempiti inomogenei* (prepolimerizzati e reinseriti, a particelle sferiche prepolimerizzate ad agglomerati di microparticelle); *ibridi*.

I compositi possono essere: autopolimerizzabili in forma pasta-pasta, nei quali la reazione di polimerizzazione è di tipo chimico ed avviene ad opera del perossido di benzoile; fotopolimerizzabili, a luce ultravioletta, attualmente non più in uso, in quanto sostituiti dai compositi fotopolimerizzabili a luce visibile il cui attivatore è un dichetone (canfochinone) sensibile alla luce visibile di lunghezza d'onda compresa tra 420-470 nm.

Prima di applicare il composito sul dente dopo la preparazione della cavità è necessario provvedere alla mordenzatura dello smalto periferico della cavità, e all'applicazione dell'adesivo smalto-dentinale, sostanza in grado di aderire intimamente con lo smalto e/o la dentina, attraverso un contatto di natura meccanica per mezzo delle microritenzioni ottenute con la mordenzatura e legami chimici con il composito, grazie all'affinità di struttura dei due materiali.

L'adesivo smalto-dentinale garantisce una buona adesione tra il composito e i tessuti dentali, fatto questo che migliora la resa e la durata dell'otturazione ed impedisce l'insorgenza di recidive; inoltre consente delle preparazioni meno demolitive in quanto non è necessario creare grosse cavità ritentive.

I compositi rappresentano i materiali estetici per eccellenza, vengono quindi utilizzati, in odontoiatria conservativa, sempre per le restaurazioni dei denti anteriori (incisivi e canini) (microriempiti e ibridi), ovvero nei settori posteriori (premolari e molari) (macroriempiti o ibridi) in alternativa all'amalgama.

Alcune caratteristiche negative dei compositi come la scarsa resistenza all'abrasione e alla trazione, la contrazione da polimerizzazione e il coefficiente di dilatazione termica lineare, tendono a limitarne l'uso sui denti posteriori e comunque non consentono la completa sostituzione di questi all'amalgama.

*Amalgama*

Per quanto riguarda l'amalgama, l'argomento è svolto in una specifica voce (v. AMALGAMA*, col. 254).




Digitized by Google

**Materiali per parodontologia**

Appartengono a questa categoria di composti le membrane microporose, la colla di fibrina, i materiali ceramici di riempimento e i cementi chirurgici.

*Membrane microporose*

Introdotte in odontoiatria per guidare la rigenerazione dei tessuti perduti in seguito alla malattia parodontale (v. PARODONTALE MALATTIA*), sono dei filtri della porosità di circa 1 micron, che consentono l'incorporazione tessutale senza permettere alle cellule epiteliali e del connettivo gengivale di riempire lo spazio del difetto osseo. Le più comuni membrane microporose sono: Gore-Tex® (politetrafluoroetilene espanso) introdotto in campo medico agli inizi degli anni '70, è costituito da due parti contigue: una membrana occlusiva e una microstruttura aperta; Sartorius® di composizione chimica identica al Gore-Tex® ma non fornito in forme presagomate; Millipore® costituito da nitrato e acetato di cellulosa; il diametro dei pori che costituisce la trama delle membrane è inferiore ad 1 micron.

*Colla di fibrina*

Meglio conosciuta con il nome commerciale di Tissucol®, è un collante biologico termotrattato, atossico e biocompatibile, usato in chirurgia parodontale per la sua triplice funzione emostatica, collante e biostimolante. Si compone di due sostanze: tissucol liofilizzato e trombina bovina. Il primo contiene fibrinogeno e fattore XIII, viene attivato a 37 °C con una soluzione di aprotinina; la seconda viene attivata con l'aggiunta di cloruro di calcio. Le due soluzioni vengono poi aspirate in due distinti comparti di una speciale siringa a due vie (Duploject®); si uniranno a formare la colla di fibrina solo al momento della loro applicazione sulla parte cruentata.

*Materiali ceramici di riempimento*

L'impiego di questi materiali nasce dall'esigenza di riempire i difetti di tessuto nelle tasche infraossee, ovvero di rialzare le creste edentule. Queste bioceramiche possono essere riassorbibili e non riassorbibili: mentre le prime permettono la neoformazione d'osso all'interno dei pori del materiale, che verrà successivamente riassorbito, quelle non riassorbibili, invece, fungono da sostitutivi dell'osso.

La ceramica riassorbibile (Syntograft®) si presenta sotto forma di polvere bianca ed è costituita da β-tricalcio fosfato, $Ca_3(PO_4)_2$, risulta biodegradabile in quanto viene disciolta dall'acqua e dall'anidride carbonica presenti nei fluidi interstiziali.

L'idrossiapatite (Calcitite®; Periograft®), che non è riassorbibile, è un fosfato di Ca la cui formula è $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$: viene sintetizzata in forma granulare. La sua microstruttura granulare è costituita da particelle che possono avere struttura densa o porosa.

*Cemento chirurgico*

Viene utilizzato per ricoprire una ferita chirurgica dopo un intervento parodontale in quanto facilita l'emostasi, protegge il coagulo e riduce il dolore postoperatorio. Ne esistono due tipi a seconda che contengano o meno eugenolo. La composizione dei primi, meno usati, è: ossido di zinco, colofonia e amianto nella polvere ed eugenolo e olio di oliva nel liquido. I secondi, forniti in pasta, contengono ossidi metallici, laratidolo, acidi carbossilici e clorotimolo.

**Materiali da impronta**

Tra i numerosi materiali disponibili sul mercato, possiamo oggi scegliere quelli che, di volta in volta e a seconda dello specifico scopo, rispondono al maggior numero dei seguenti requisiti: 1) biocompatibilità; 2) adeguato tempo di presa; 3) precisione; 4) stabilità dimensionale; 5) resistenza allo strappo; 6) facilità di impiego; 7) odore, sapore e consistenza adeguati all'introduzione nel cavo orale; 8) compatibilità con i materiali per modelli; 9) lungo periodo di conservazione prima dell'uso; 10) costo accettabile. I materiali da impronta si distinguono in rigidi ed elastici.

TAB. I. COMPOSIZIONE DEGLI IDROCOLLOIDI REVERSIBILI

| Composizione | Consistenza alta | Consistenza bassa |
|---|---|---|
| Agar | 14% | 12,5% |
| Borace | 0,2% | 0,2% |
| Solfato di potassio | 2% | 1,7% |
| Acqua | 83,4% | 85,5% |

*Materiali da impronta rigidi*

Se ne conoscono almeno 4 tipi: *gesso da impronta* (pasta di Parigi); *paste termoplastiche*; *paste all'ossido di zinco ed eugenolo*; *cere da impronta*.

A parte le cere, usate per impronte correttive e di registrazione, rispettivamente per la ribasatura di placche di protesi ed il posizionamento dei modelli in gesso delle arcate, i materiali da impronta rigidi sono stati soppiantati da quelli elastici più moderni.

*Materiali da impronta elastici*

I materiali da impronta elastici si distinguono in *idrocolloidi* ed *elastomeri*.

1. *Idrocolloidi.* – Un idrocolloide è una sostanza allo stato colloidale che ha come fase disperdente l'acqua. Può trovarsi allo stato di sol (liquido viscoso) o di gel (sostanza semisolida di consistenza gelatinosa). Il cambiamento di stato può avvenire in base alla temperatura o per una vera e propria reazione chimica.

Nel primo caso la reazione è reversibile, nel secondo è irreversibile.

a) *Idrocolloidi reversibili.* – Sono stati i primi materiali da impronta elastici usati in odontoiatria (agar), forniti in confezioni ermetiche monodose. L'impiego principale è rappresentato da impronte per la costruzione di protesi fisse. Nella tab. I sono riportate le differenti percentuali di composizione di questo materiale a seconda che abbia una consistenza medio-alta o bassa.

b) *Idrocolloidi irreversibili.* – Tali sostanze prendono il nome di *alginati* perché uno dei principali componenti è un sale dell'ac. alginico (acido organico ad alto peso molecolare che si ricava da alcuni tipi di alghe marine). Gli alginati vengono forniti sotto forma di una polvere che viene miscelata con acqua in debite proporzioni per formare una pasta.

Gli alginati vengono utilizzati per il rilevamento di impronte per la costruzione dei modelli di studio, per impronte a scopo ortodontico, per il rilievo di impronte preliminari di arcate edentule, per il rilievo di impronte di arcate parzialmente edentule, per la costruzione di protesi parziali rimovibili.

La composizione degli alginati è la seguente:

| | |
|---|---|
| alginato di sodio | 12-20% |
| solfato di calcio | 8-16% |





Digitized by Google

fosfato trisodico 1-2 % (ritardante)
farina fossile 50-70% (riempitivo)
ossido di zinco
fluoruro di potassio
sostanze aromatiche
indicatori chimici

2. *Elastomeri*. – Gli elastomeri (o gomme sintetiche) sono dei polimeri sintetici ad alto peso molecolare dotati di elevate caratteristiche elastiche.

Gli elastomeri da impronta vengono forniti sotto forma di due componenti (due paste oppure una pasta e un liquido) che vengono miscelate tra loro prima dell'impiego.

Rispetto agli idrocolloidi presentano alcuni vantaggi: sono dimensionalmente più stabili; consentono la galvanoplastica delle impronte; presentano maggior resistenza e si lacerano più raramente.

In base alla loro natura chimica e secondo la comparsa cronologica sul mercato, gli elastomeri da impronta si possono distinguere in: gomme al polisolfuro (o mercaptaniche o thiokol); gomme siliconiche a polimerizzazione per condensazione; gomme polietere; gomme siliconiche a polimerizzazione per addizione (polivinilsilossani).

Ognuno di questi materiali viene poi ulteriormente elassificato in base alla consistenza: viscosità molto alta (*putty*), viscosità alta (*heavy*), viscosità media (*regular*), viscosità bassa (*light*).

Gli elastomeri da impronta grazie alle loro doti di precisione, facilità d'uso e alla varietà di tipi e consistenze disponibili sul mercato vengono considerati dei materiali da impronta universali in protesi fissa.

a) *Gomme al polisolfuro (o mercaptaniche o gomme thiokol).* – Sono stati i primi elastomeri da impronta introdotti in odontoiatria. Vengono forniti in tubetti metallici deformabili e sono disponibili in tre viscosità (alta, media e bassa). Per ogni viscosità le due paste vengono comunemente denominate pasta base e catalizzatore.

La composizione delle paste è la seguente.

*Pasta base*
polimero solfonato (che è un mercaptano funzionale) 80%
carbonato di calcio riempitivo
solfato di calcio »
stearato di calcio »
ossido di magnesio »
biossido di titanio »
silice colloidale »
amine aromatiche »

*Pasta catalizzatrice*
perossido di piombo 78% catalizzatore
biossido di titanio riempitivo
solfuro di zinco »
solfo 3% plastificante
olio inerte 19% »
acido oleico ritardante
acido stearico »

Miscelando tra loro le due paste avviene una reazione chimica tra il biossido di piombo ed il polimero mercaptanico. Questa reazione genera dapprima un allungamento delle catene del polimero per l'ossidazione dei gruppi terminali SH. Si ha poi la formazione di legami trasversali tra le macromolecole grazie all'ossidazione dei gruppi laterali SH. La reazione è accompagnata da liberazione di acqua e formazione di solfuro di piombo.

b) *Gomme siliconiche a polimerizzazione per condensazione.* – Sono costituite da una pasta base e un catalizzatore che può essere sotto forma di liquido o di pasta.

La composizione delle paste è la seguente.

*Pasta base*
polimero siliconico (polidimetilsilossano)
silice riempitivo
ossidi metallici »

*Catalizzatore*
silicato alchilico (sostanza atta a generare legami intermolecolari)
ottoato di stagno attivatore
coloranti

Dopo la reazione della pasta base con il reagente, avviene la formazione di legami chimici primari tra le molecole siliconiche attraverso i gruppi terminali, con liberazione di un alcol. L'evaporazione dell'alcol che si libera causa una piccola contrazione graduale del materiale.

c) *Gomme polietere.* – Le gomme polietere sono state sviluppate al fine di ottenere un elastomero da impronta il quale durante la polimerizzazione non liberasse sostanze secondarie, e che quindi presentasse una maggiore stabilità dimensionale rispetto ai precedenti. Questi materiali vengono in genere forniti con un solo grado di viscosità (media), e viene in genere fornito un diluente il quale aggiunto all'impasto ne riduce la viscosità.

La composizione delle paste è la seguente.

*Pasta base*
polietere ramificato
riempitivo
plastificante

*Pasta reagente*
estere aromatico ramificato
riempitivo
plastificante

La reazione chimica consiste in una polimerizzazione cationica, la quale genera la formazione di un elastomero senza liberazione di sostanze secondarie.

d) *Gomme siliconiche a polimerizzazione per addizione (o polivinilsilossani).* – La polimerizzazione di queste sostanze avviene per diretta unione di macromolecole siliconiche senza quindi liberazione di sostanze secondarie e con una piccolissima contrazione del materiale. Anche questi materiali sono disponibili in quattro viscosità e vengono commercializzati sotto forma di paste.

La composizione chimica delle due paste è la seguente.

*Pasta base*
polidimetilsilossano con gruppi sostituiti da atomi di idrogeno
riempitivo
coloranti

*Pasta catalizzatrice*
polimero siliconico a basso peso molecolare con gruppi terminali vinilici
ac. cloroplatinico catalizzatore
coloranti

L'unione delle molecole avviene grazie all'apertura del doppio legame del gruppo vinilico situato all'estremità delle molecole siliconiche contenute nella pasta catalizzatrice.

**Materiali per protesi**

I materiali usati in campo protesico sono: le leghe metalliche nobili e non nobili, le resine e le porcellane.

*Leghe metalliche nobili*

Particolarmente indicate per le loro caratteristiche meccaniche, tecnologiche e biologiche, le leghe d'oro rivestono una particolare importanza per la costruzione di protesi




Digitized by Google

TAB. II. COMPOSIZIONE DELLE LEGHE METALLICHE NOBILI

(da Simionato, 1983)

| Tipo di lega | Oro % | Argento % | Rame % | Platino % | Palladio % | Zinco % |
|---|---|---|---|---|---|---|
| I | 80,2-95,8 | 2,4-12 | 1,6-6,2 | 0-1 | 0-3,6 | 0-1,2 |
| II | 73-83 | 6,9-14,5 | 5,8-10,5 | 0-4,2 | 0-5,6 | 0-1,4 |
| III | 71-79,8 | 5,2-13,4 | 7,1-12,6 | 0-7,5 | 0-6,5 | 0-2 |
| IV | 62,4-71,9 | 8-17,4 | 8,6-15,4 | 0,2-8,2 | 0-10,1 | 0-2,7 |

metalliche sia fisse che mobili o di parti di protesi. Le leghe d'oro da colata si distinguono in quattro tipi: tenera (I), media (II), dura (III) ed extradura (IV): nella tab. II sono riportate le concentrazioni minime di oro per i singoli tipi.

L'oro conferisce alla lega resistenza alla corrosione, duttilità e colore giallo. Il rame aumenta la durezza, la resistenza, la temprabilità e abbassa la temperatura di fusione. L'argento aumenta la durezza e schiarisce il colore. Il platino aumenta la durezza e la resistenza della lega, la sua resistenza alla corrosione, la temprabilità e schiarisce il colore. Il palladio può sostituire il platino con un costo inferiore. Lo zinco abbassa la temperatura di fusione e diminuisce l'ossidabilità degli altri elementi ossidandosi per primo.

*Leghe metalliche non nobili*

Sono leghe al cromo-cobalto-nichel, anche dette *stelliti*, usate prevalentemente per la costruzione di scheletri per protesi parziali rimovibili. Possono avere una composizione variabile come è mostrato in tab. III.

Dei vari costituenti il cromo conferisce alla lega la passività (resistenza alla corrosione). Il cobalto aumenta l'elasticità, la resistenza e la durezza. Il nichel aumenta la malleabilità. Il carbonio e il molibdeno aumentano la durezza. Il manganese e il silicio aumentano la fluidità e la colabilità. Ferro e rame aumentano la durezza. L'alluminio aumenta la durezza e la resistenza alla trazione. Il berillio aumenta la durezza e abbassa la temperatura di fusione.

TAB. III. ESEMPI DI COMPOSIZIONI DI LEGHE AL CROMO-COBALTO-NICHEL

(da Simionato, 1983)

| Costituenti | Leghe | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Cromo | 30 | 30 | 26,1 | 21,6 | 17 |
| Cobalto | 64 | 62,5 | 52 | 43,5 | — |
| Nichel | — | — | 14,2 | 20,1 | 66 |
| Molibdeno | 5 | 5 | 4 | 7 | 5 |
| Manganese | — | 0,5 | 0,7 | 3 | 5 |
| Silicio | 0,35 | 0,5 | 0,58 | 0,35 | 0,5 |
| Ferro | — | 1 | 1,2 | 0,25 | 0,5 |
| Carbonio | 0,35 | 0,5 | 0,22 | 0,05 | 0,1 |
| Alluminio | — | — | — | — | 5 |
| Gallio | 0,05 | — | — | — | — |
| Rame | 0,04 | — | — | 3,5 | — |
| Berillio | — | — | — | 0,9 | — |

*Resine per protesi*

Le resine in campo odontoiatrico trovano numerosi impieghi per le loro ottime caratteristiche estetiche, la facilità di lavorazione, la leggerezza e la stabilità chimica. Il loro utilizzo nel lavoro di protesi riguarda in particolare la costruzione di portaimpronte e di basi per protesi rimovibili, la ricopertura estetica di corone e ponti metallici, la costruzione di intarsi, corone, ponti provvisori e di protesi maxillo-facciali.

Le resine vengono classificate in base alla loro composizione in:

a) resine acriliche a base di polimetilmetacrilato;
b) resine acriliche modificate: *a*) con elevata resistenza agli urti; *b*) idrofile a base di idrossimetilmetacrilato;
c) copolimeri vinil-acrilici;
d) policarbonati;
e) polistirene.

Tra queste le più usate sono le prime prodotte sottoforma di due componenti: la polvere costituita dal polimero, da un iniziatore, da un plastificante e da pigmenti e opacizzanti, ed il liquido costituito dal monomero e da un inibitore. Possono essere termo- o autopolimerizzanti. Nel primo caso la polimerizzazione è più completa e migliori sono di conseguenza le caratteristiche della resina a scapito però della versatilità d'uso che è massima nel secondo caso, e cioè delle resine a freddo. Le prime sono preferite per lavori definitivi, le seconde per lavori provvisori, per riparazioni e ribasature e per portaimpronte individuali. Con l'aggiunta di due elastomeri, stirene e butadiene, al polimero convenzionale, si ottengono resine modificate con resistenza agli urti doppia, ideali per basi di protesi.

*Porcellane*

Estremamente stabili e inalterabili nel cavo orale e dotate di eccellenti proprietà estetiche, presentano come aspetto negativo una bassa resistenza alla trazione ed una accentuata fragilità.

Le porcellane possono essere classificate in base alla temperatura di cottura in: porcellane ad alta temperatura di cottura (1250-1400 °C), e porcellane a bassa temperatura di cottura (850-1100 °C).

Le prime sono impiegate per la costruzione di denti artificiali e presentano la seguente composizione: feldspati (albite e ortoclasio) 80%, ossido di sodio, ossido di potassio, quarzo, silice, caolino.

Le seconde, impiegate per la costruzione di corone a giacca e per la ricopertura di corone metalliche, sono costituite da: silice 25%, feldspati 60%, fondenti 15%, ossidi di ferro, titano e zirconio.

**Materiali per ortodonzia**

I materiali dentali utilizzati in ortodonzia comprendono: resine per placche, *brackets*, fili e ricopertura dei fili.





Digitized by Google

*Placche*

Vengono impiegate per l'ortodonzia mobile e per la contenzione al termine della terapia ortodontica fissa.

Per la costruzione di placche ortodontiche si usa esclusivamente la resina a freddo per la sua praticità, la versatilità d'uso ed economicità.

La composizione e le caratteristiche di questo tipo di resina sono state trattate nei materiali per protesi.

*Brackets*

Impiegati in terapia ortodontica fissa, si cementano ai denti e consentono la trasmissione delle forze dall'arco agli stessi.

I *brackets* possono essere costruiti in metallo, in plastica (ora non più usati) e in ceramica. I primi possiedono migliori caratteristiche meccaniche, ma sono meno validi dal punto di vista estetico rispetto agli ultimi che d'altro canto possono spezzarsi. I *brackets* in ceramica sono costituiti di ossido di alluminio sottoforma mono- o policristallina. Vengono ricavati da una massa fusa ad oltre 2100 °C che viene raffreddata, forgiata e trattata termicamente.

Per quanto concerne le legature, quelle impiegate con i *brackets* ceramici sono costituite da archi in metallo teflonato, dello stesso colore della ceramica.

*Fili*

Costituiscono gli archi che trasmettono ai denti, attraverso ritorno elastico, le forze e i movimenti ad essi impartiti.

Le caratteristiche da tener presente per la scelta del materiale per fili ortodontici sono le seguenti: resilienza, rigidità, malleabilità, energia immagazzinata, biocompatibilità e stabilità nell'ambiente orale, congiungibilità e attrito.

Nella tab. IV sono confrontati tra loro i cinque principali materiali: acciaio inossidabile, leghe al cromo-cobalto, al nichel-titanio, al beta-titanio e multifili, per quanto riguarda ogni singola caratteristica.

Di seguito riportiamo la composizione chimica dei materiali.

| | |
|---|---|
| acciaio inossidabile | 71% Fe, 18% Cr, 8% Ni, 0,2% C; |
| cromo-cobalto | 40% Co, 20% Cr, 15% Ni, 15% Fe, 7% Mo, 2% Mn; |
| nichel-titanio | 52% Ni, 45% Ti, 3% Co; |
| beta-titanio | 79% Ti, 11% Mo, 6% Zn, 4% Sn; |
| multifili | sono fabbricati sempre in acciaio inossidabile, ma sono composti da un numero specifico di fili di diametro sottile uniti a formare un singolo filo di sezione circolare o rettangolare. |

*Ricopertura dei fili.* – Per risolvere il problema estetico, rappresentato dalla visibilità di quei fili sullo sfondo bianco dei denti, è stato di recente introdotto il Teflon® o PTFE. Si tratta di un fluorocarbonato insolubile, chimicamente stabile, biocompatibile, con basso coefficiente di attrito e soprattutto molto valido dal punto di vista estetico, con cui vengono ricoperti i fili metallici. Questa ricopertura teflonata ha dato buoni risultati anche a distanza di tempo, se si eccettua la tendenza a distaccarsi parzialmente soprattutto in corrispondenza di anse.

**Materiali per endodonzia**

I materiali per uso endodontico si distinguono in: devitalizzanti, medicamenti e sostanze per l'otturazione definitiva dei canali radicolari.

*Devitalizzanti*

Tra i *devitalizzanti* attualmente usati bisogna ricordare il formocresolo e la paraformaldeide.

Il primo (costituito da 19 parti di formaldeide e da 35% di cresolo in eccipienti di acqua e glicerina) si usa preferibilmente nei denti decidui in quanto provoca una devitalizzazione a strati della polpa.

La paraformaldeide ($CH_2O$), polimero della formaldeide, conosciuta anche sotto il nome di triossimetilene, si ottiene evaporando a bassa temperatura una soluzione acquosa di formaldeide. La paraformaldeide, che si applica sulla polpa camerale, provoca la mummificazione di tutto il tessuto pulpare, con perdita completa della sensibilità nell'arco di tempo di 15 giorni circa.

*Sostanze medicamentose*

Le sostanze medicamentose di più comune impiego in campo endodontico sono: i farmaci aspecifici, quelli specifici, i medicamenti intracanalari (idrossido di calcio e l'ossido di calcio).

I farmaci aspecifici (fenolo, creosoto, paraclorofenolo canforato, eugenolo) sono veleni protoplasmatici con differenti proprietà antimicrobiche: hanno un elevato potenziale infiammatorio; sono sostanze volatili, con bassa tensione superficiale per cui è impossibile misurare il loro grado di penetrazione nell'endodonto; c'è quindi la possibilità che diano, se non correttamente applicati, reazioni a livello dei tessuti periapicali.

Tra i farmaci aspecifici il più usato è il Cresatin® (un metacresilacetato, ovvero un estere acetico del metacresolo), in quanto ha un basso potere infiammatorio ed è il meno irritante, tra gli altri, per i tessuti periapicali. È debolmente antisettico (antibatterico ed antifungino); grazie alle sue spiccate proprietà analgesiche e sedative, questo liquido oleoso viene impiegato come medicazione provvisoria sulla polpa esposta, al fine di lenire il dolore pulpare; può essere inoltre utilizzato come medicazione intracanalare dopo asportazione del tessuto vitale, nell'intervallo di tempo che precede l'otturazione definitiva dei canali.

I farmaci specifici, oggi molto poco usati, sono delle paste che vengono applicate sulla polpa camerale dopo una pulpotomia d'urgenza, quando vi sono parodontiti apicali in atto, e possono essere a base di cortisonici (sulfobenzonato di desametasone), di antibiotici o di una combinazione

**TAB. IV. CARATTERISTICHE DEI MATERIALI COSTITUTIVI DEI FILI PER ORTODONZIA**

| Filo | Resilienza | Rigidità | Modellabilità | Energia immagazzinata | Biocompatibilità e stabilità ambientale | Congiungibilità | Attrito |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Acciaio inossidabile | Bassa | Alta | Buona | Bassa | Buona | Saldati o uniti | Basso |
| Cromo-cobalto | Bassa | Alta | Buona | Bassa | Buona | Saldati o uniti | Basso moderato |
| Nichel-titanio | Alta | Bassa | Poca | Alta | Non sempre | No | Basso moderato |
| Beta-titanio | Media | Media | Buona | Media | Buona | Uniti | Alto |
| Multifili | Alta | Bassa | Poca | Alta | Buona | Saldati o uniti | Non sperimentato |



Digitized by Google

di entrambi (Ledermix®, non in commercio in Italia, e Aurocort®).

Tra i medicamenti intracanalari oggi più utilizzati bisogna ricordare: l'idrossido di calcio e l'ossido di calcio. L'idrossido di calcio, $Ca(OH)_2$, è una sostanza in grado di svolgere un'azione battericida grazie all'elevata alcalinizzazione che produce, ad opera degli ioni ossidrilici $OH^-$, e ad un'azione di esaltazione delle funzioni dei tessuti vitali attraverso un innalzamento della concentrazione di $O_2$ a livello dei tessuti con i quali viene a contatto. Per questo motivo l'idrossido di calcio, in forma pura, è il materiale di elezione per gli incappucciamenti, diretti ed indiretti, la pulpotomia, l'apicogenesi, l'apicificazione ed il riassorbimento interno.

La terapia ocalessica è un trattamento basato sull'uso dell'ossido di calcio, CaO, come medicazione intermedia. La trasformazione dell'ossido di calcio in idrossido di calcio all'interno dell'endodonto, in seguito alla combinazione con i liquidi organici e l'acqua ivi presenti, determina la espansione e quindi la penetrazione della sostanza nell'endodonto non accessibile. In questo caso l'azione dell'idrossido di calcio può svolgersi anche nei canali laterali ed accessori.

La sua principale indicazione riguarda i denti con polpa necrotica.

*Materiali per l'otturazione canalare*

Sono: i cementi, la guttaperca e i coni d'argento.

Un *cemento endodontico* deve presentare delle particolari caratteristiche fisicochimiche: deve essere composto da particelle di polvere molto piccole affinché esse possano miscelarsi facilmente con il liquido, deve essere viscoso, indurire lentamente, non essere irritante, non deve pigmentare la corona del dente, non deve subire contrazioni, deve essere radiopaco e deve essere solubile con un solvente.

I cementi endodontici più comunemente usati sono: il cemento di Rickert (polvere: ossido di zinco 41,2%, argento precipitato 30%, resina bianca 16%, diodo timolo 12,8%; liquido: essenza di garofano 78 ml e balsamo di Canada 22 ml) e quello di Grossman (polvere: ossido di zinco 41%, resina stabelite 27%, carbonato di bismuto 15%, solfato di bario 15%, borato di sodio anidro 2%; liquido: eugenolo).

Le caratteristiche dei cementi sono importanti in quanto questi, oltre a poter essere impiegati singolarmente per la chiusura di un canale radicolare, devono essere sempre utilizzati con qualsiasi altra tecnica impiegata.

Per i cementi per otturazione esterna, v. CEMENTI* (col. 1436).

La *guttaperca* (v.) è una sostanza solida, termoplastica, commercializzata in forma di coni, la quale viene introdotta nel canale radicolare per essere poi ad esso adattata con diverse tecniche: cono singolo, condensazione laterale, condensazione verticale, termocompattazione, cloroperca.

Tra i materiali da otturazione solidi bisogna infine ricordare i *coni d'argento* i quali possono essere impiegati, anche se raramente, per otturare canali molto stretti e curvi a sezione tondeggiante, dove è difficile utilizzare la guttaperca o far penetrare il cemento con uno spingipasta.

**Bibliografia**


Axelsson P., Lindhe J., *J. Clin. Periodont.*, 1978, **5**, 133-151.
Bowen R. L., *J.A.D.A.*, 1967, **74**, 53-59.
Colangelo G., *Manuale di ortognatodonzia*, 1982, Ed. Universitarie Scientifiche, Roma.
Dolci G., Maggiore C., *Riv. Ital. Stomatol.*, 1991, 4, 204-215.
Farronato G. P., Casiraghi G., Gianni A. B., Salvato A., *Mondo Ortodontico*, 1988, **13** (2), 83-89.
Favilli F., Piasentini A., Rochin M., Falconi A., *Giornale Stomatologia e Ortognatodonzia*, 1990, **9**, 94-101.
Gottlow J., Nyman S. *et al.*, *J. Clin. Periodont.*, 1986, **13**, 604-616.
Ingle J. I., *Endodontics*, 1985, Lea & Febiger, Philadelphia.
Kapila S., Sachdeva R., *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.*, 1989, **96**, 100-109.
Kusy R. P., *The Angle Orthodontist*, July, 1988, 197-203.
Laurichesse J. M., Maestroni F., Breillat J., *Endodonzia clinica*, 1990, Masson Italia, Milano.
Lutz F., Phillips R. W., *J. Prosth. Dent.*, 1983, **50** (4), 480.
Nery E. B., Lych K. L., *J. Periodont.*, 1978, **49**, 523.
Phillips R. W., *Clin. Odont. Nord America*, 1982, **12**, 527.
Simionato F., *Tecnologia dei materiali dentali*, 1983, Piccin, Padova.
Strohmenger L., Weinstein R., *Prevenzione della carie*, stampato a cura della ORAL B.
Valletta G., Matarasso S., *Atlante di parodontologia*, 1983, Idelson, Napoli, 173-175.
Weinstein R., Strohmenger L., *Le gengiviti*, stampato a cura della ORAL B.
Welleberg J. *et al.*, *Fluoride in Preventive Dentistry*, 1983, Quintessence, Chicago.
Yeung S., Boyatzis S., *J. Clin. Periodont.*, 1990, **17**, 321.


CLAUDIA MAGGIORE

**MATERIALI IMPIANTABILI** [v. vol. IX, col. 494]

Attualmente i materiali impiantabili sono visti come parte integrante della più ampia e completa categoria dei *biomateriali*, la cui attuale definizione, prevalentemente accettata negli ambienti scientifici, è quella di «materiali non viventi usati in dispositivi medici destinati a interagire con sistemi biologici».

In tale categoria vengono pertanto considerati non solo i m. i. nell'organismo in senso stretto, ma anche quelli che in qualche modo, per la destinazione dei relativi dispositivi, devono venire in contatto con liquidi biologici, sangue o tessuti in generale. Restano così compresi anche materiali costituenti circuiti e organi artificiali extracorporei, contenitori per sangue, siringhe, cateteri, sonde, presìdi medici diversi. Di fatto, e potenzialmente, restano compresi tutti i materiali aventi la caratteristica della biocompatibilità, definita quest'ultima, a seconda della specifica destinazione, in base alle salienti caratteristiche del sistema biologico con cui ciascun materiale è candidato a venire in contatto.

I biomateriali su cui si concentra l'attenzione sono di massima selezionati dalle ampie classi dei materiali da costruzione in senso lato messi a disposizione dalle ricerche e dalle produzioni chimiche, e relative tecnologie, attraverso approfondite caratterizzazioni chimico-fisiche, fisiche e ingegneristiche, affiancate da caratterizzazioni biologiche, esami *in vitro* e *in vivo*, infine seguite da sperimentazioni cliniche su animali e sull'uomo. Sempre più sentita è tuttavia la tendenza a progettare e sperimentare anche materiali ideati *ad hoc*, utilizzando le conoscenze nel frattempo accumulatesi nelle applicazioni biomediche e nei contemporanei notevoli sviluppi della scienza e tecnologia dei materiali in generale.

I materiali vengono sempre distinti prevalentemente nelle tre tradizionali categorie dei materiali *metallici*, *ceramici* (e inorganici in generale) e *polimerici* (od organici, o macromolecolari). Come biomateriali essi vengono preparati, studiati e applicati nelle forme chimiche e strutturali ritenute ottimali per la missione prevista. Attualmente, nella tecnica sono in forte sviluppo anche materiali *compositi*, o ideazioni di manufatti compositi costruiti con parti che consistono di materiali completamente diversi; questa tendenza sta riversandosi anche nel campo dei biomateriali e delle protesi.

Un caso tipico di materiali compositi è quello di materiali polimerici rinforzati con cariche e fibre organiche o inorganiche molto resistenti, che vengono studiati, per es., in



Digitized by Google

sostituzione di placche o infibuli metallici in ortopedia, o nella simulazione di tendini naturali. Un esempio caratteristico di manufatto composito è, invece, la protesi totale dell'anca, nella quale si tende ad affidare la maggiore robustezza meccanica a un metallo per l'asta innestata nel femore, e il minimo attrito e usura nell'articolazione a un materiale ceramico per la testa sferica calettata sull'asta; e questa viene contrapposta alla cavità sferica di un acetabolo in materiale polimerico più morbido, innestato nel bacino. In tal caso la scelta specifica dei materiali cade oggi prevalentemente su leghe a base di cobalto e cromo, oppure su titanio (che associano resistenza meccanica a minima sensibilità alla corrosione) per la parte metallica, su allumina con struttura fisica altamente selezionata (massima durezza superficiale e minima fragilità) per il componente ceramico, e, infine, su polietilene di altissimo peso molecolare (particolare resistenza all'abrasione e capacità di assorbimento di sovraccarichi e vibrazioni) per l'acetabolo.

È tuttavia comprensibile che i materiali metallici e ceramici, alcuni dei quali possono raggiungere alta resistenza specifica, durezza e buona biocompatibilità, e quindi indubbiamente si prestano alla costruzione di particolari parti di protesi o di ausili di interesse soprattutto ortopedico e odontoiatrico, restino pur sempre materiali lontani nelle loro proprietà, specie di rigidità e impervietà, da quelli costituenti i tessuti naturali. I tessuti ossei stessi, che nell'organismo raggiungono le massime proprietà di compattezza e solidità meccanica, risultano dell'ordine di una decina di volte più flessibili dei comuni metalli, e tutti gli altri tessuti hanno proprietà complessive di diversi ordini di grandezza più lontane.

È pertanto più che evidente che i biomateriali polimerici si presentano sempre più come i candidati per eccellenza alla simulazione in tutti i sensi del comportamento dei tessuti naturali o di loro componenti. Essi possono variare le loro proprietà da quelle di corpo rigido e compatto, o eventualmente poroso, a quelle di corpo elastico e gommoso, fino a quelle di strutture gelatinose più o meno rigonfiate, in ogni caso progettabili con caratteristiche fisiche, chimiche e chimico-fisiche, e perciò anche di interazione con l'ambiente biologico, le più diverse. È d'altra parte ben noto che i materiali e molte delle sostanze costituenti i tessuti naturali sono di fatto polimerici, ma anche che una loro esatta «copiatura» o «replica» è ancora ben lontana dalle possibilità della nostra chimica macromolecolare, che in natura si svolge a opera di raffinate catalisi di numerosissimi enzimi e di meccanismi di sintesi e rinnovo di altissima complessità e selettività.

La simulazione artificiale dei tessuti o materiali naturali può ovviamente essere aggirata, in linea di principio, mediante l'estrazione di materiali o tessuti naturali da organismi viventi e una loro adeguata elaborazione che consenta l'impianto senza lo scatenamento di reazioni immunitarie. Questa via è, ovviamente, tenuta sempre in seria considerazione, ma solo in pochissimi casi può essere ragionevolmente seguita o tentata. Un esempio è l'uso di fibrina, che si è dimostrato pratico ed efficiente per alcune riparazioni di tessuti molli e che si presenta promettente, in formulazioni rinforzate, anche per quelle di tessuti ossei non sottoposti a gravose funzioni meccaniche (per es. nella chirurgia maxillo-facciale). All'atto dell'applicazione il preparato coagula nell'ambiente biologico simulando e stimolando la formazione di un primo tessuto fibroso, che può in seguito evolvere in senso favorevole. Nei riempimenti di cavità ossee la fibrina può essere, per es., mescolata a granuli di idrossiapatite, cioè di un fosfato di calcio che può essere oggi preparato in una forma chimica molto simile a quella della parte inorganica dell'osso naturale. In tal caso, nell'applicazione si ha la rapida formazione di un composto osteosimile, che in favorevoli circostanze può evolvere a tessuto osseo con meccanismo naturale di osteoinduzione o conduzione, nel quale l'idrossiapatite appare fungere da materia elaborabile per la costruzione delle trabecole ad opera delle cellule a questo preposte, affluenti dall'osso ospite.

Un ulteriore esempio è quello delle valvole cardiache che, nel caso di pazienti non eparinizzabili in modo permanente, possono essere costruite con pericardio bovino o porcino, anche se con risultati attualmente di durata relativamente modesta. Più efficaci, in caso di eparinizzazione, risultano valvole composite il cui organo mobile di chiusura alternata è costituito da sfera in titanio o dischetto in materiale inorganico (per es. *grafite*), entrambi tuttavia superficialmente trattati e ricoperti da sottilissimi strati di tipo ceramico (per es. *pirocarbone*), che impartiscono al pezzo completa inerzia chimica e minima trombogenicità.

In altri tipi di applicazioni, tra cui predomina quello di sostituzioni arteriose o vascolari, si è arrivati alla convinzione che la protesi impiantabile non può essere costituita da un condotto a parete piena, in qualsiasi modo costruito, anche composito, di materiale polimerico sintetico o di estrazione naturale e non vivente. L'attuale soluzione è ancora affidata, come da tempo, a materiali tessuti, quali maglie in filo di *Dacron*® (tereftalato di polietilene), o comunque variamente porosi, come più recentemente, in certi casi, spugne a consistenza elastomerica di polimeri fluorurati. La concezione è cioè quella di offrire adeguato supporto, rinforzo e guida alla ricostruzione naturale di tessuti viventi di struttura il più possibile adatta alla funzione mancante, e non soltanto di natura cicatriziale e riparativa. Una tale concezione, generalizzabile ad altre protesi, implica tuttavia difficili problemi allo studio relativi a struttura e dimensioni ottimali dei pori e all'ambiente chimico e chimico-fisico da determinare in essi per ottenere una corretta invasione, proliferazione e morfologia di tessuti connettivi circostanti e formazione della neointima. Praticamente irrisolto è ancora il caso di sostituzione di vasi di diametro inferiore a 4-5 mm.

In generale, le problematiche relative ai biomateriali attualmente affrontate con maggiore intensità e con mezzi di ricerca sempre più affinati si riferiscono ai due aspetti fondamentali del contatto tra il materiale e il sistema biologico: effetto del materiale sul sistema ed effetto del sistema sul materiale. E poiché il contatto avviene alla superficie di separazione, della massima importanza risulta la conoscenza, sempre più dettagliata, da un lato dell'effettiva struttura della superficie del materiale, tal quale o volutamente modificata, e dall'altro lato di quella dell'interfaccia che il sistema vivente crea strutturandosi sul materiale con i processi che gli sono propri.

Di regola, all'atto dell'impianto nel sistema biologico il materiale si ricopre di uno strato di molecole proteiche, che si struttura in modi diversi a seconda delle specifiche condizioni. A tale adsorbimento segue l'avvicinamento degli elementi cellulari che, venendo in contatto con l'interfaccia proteica, interagiscono con essa, eventualmente modificandola, attraverso una serie di processi di assestamento e di eventuale difesa. Di essi il primo stadio è quello dell'adesione cellulare, seguito da diffusione sulla superficie, moltiplicazione, attività chimiche ed enzimatiche diverse, tentativi di digestione, di fagocitosi, etc. Un favorevole insieme di intensità e durata di questi processi configura ciò che si definisce biocompatibilità, per lo più riferita all'impianto in tessuti duri o molli. Nel caso di contatto col sangue si preferisce esprimersi in termini di emocompatibilità:





Digitized by Google

i relativi processi, in genere più rapidi ed intensi, si incentrano prevalentemente sul fenomeno della trombogenicità, che oggi è ritenuta in linea di principio completamente evitabile solo quando si possa ottenere la formazione di una neointima naturale di corretta strutturazione, opportunamente indotta favorendo processi cellulari di deposito e strutturazione degli elementi ematici più idonei.

L'insieme sopra delineato è ovviamente di grande complessità e il suo studio va affrontato con molta sistematicità, prevalentemente attraverso ricerche medico-biologiche. Dal punto di vista della progettazione del materiale, premesso che ormai è abbastanza ben delineato un certo numero di materiali di partenza di massima accettabili in base a criteri di resistenza ed atossicità, l'attenzione si concentra oggi soprattutto sulla natura della loro superficie, la quale può essere quella determinata dalla natura del materiale stesso, ma anche radicalmente modificata con trattamenti di alta specializzazione e studiata nella sua attitudine all'adsorbimento di selezionate molecole proteiche. Modifiche recenti e interessanti sono quelle ottenibili con deposizione di sottilissimi strati di materiale ceramico da vapore (praticamente su ogni tipo di materiale sottostante), oppure di materiali polimerici particolari mediante l'uso di plasmi, o con tecniche di impiantazione ionica, o fotochimiche, o con radiazioni diverse, oppure ancora con più normali trattamenti chimici superficiali condotti con modalità ed attenzioni particolari.

Sempre molto attraente e studiato è l'uso di materiali d'impianto biodegradabili o bioassorbibili; esso è tuttavia sempre ancora molto limitato nei risultati, soprattutto per la difficoltà di comprensione dei processi di ricostruzione, che restano localmente complicati dalle concorrenti evoluzioni metaboliche.

Complessivamente, con riferimento agli ultimi decenni, si può affermare che da un periodo di esplorazioni e sperimentazioni definibili pionieristiche, si è passati oggi a uno stadio decisamente più razionale, con una più sistematica individuazione dei problemi ed un loro sempre più affinato approfondimento, con risultati indubbiamente sempre più affidabili in direzioni di applicazione man mano più estese.

**Bibliografia**


Hench L. L., Ethridge E. C. ed., *Biomaterials: An Interfacial Approach*, 1982, Academic Press, New York.
Kroschwitz J. I. ed., *Polymers - Biomaterials and Medical Applications*, 1989, Wiley, Chichester.
Park J. B., *Biomaterials Science and Engineering*, 1984, Plenum, New York.
Rainer B. D., *Biomedical Applications of Synthetic Polymers*, in Allen G. *et al* eds., *Comprehensive Polymer Science*, 1989, vol. 7, Pergamon, Oxford, p. 201.
Silver F., Doillon C., *Biocompatibility - Interactions of Biological and Implantable Materials*, 1989, VCH, Weinheim.


FERDINANDO DANUSSO

## MATRICE EXTRACELLULARE

F. *matrice extracellulaire*. - I. *extracellular matrix*. - T. *extrazellulare Matrix*. - S. *matriz extracelular*.

SOMMARIO



### Introduzione

La matrice extracellulare è formata dall'insieme delle macromolecole che si trovano all'esterno delle cellule di organismi multicellulari. Benché più abbondante nei tessuti connettivi e qui pertanto meglio caratterizzata (v. CONNETTIVO TESSUTO), la m. e. è presente virtualmente in tutti i tessuti dei vertebrati con caratteristiche strutturali e molecolari analoghe.

L'istologia classica definisce due principali componenti della matrice: la componente amorfa e la componente fibrillare. La prima è costituita prevalentemente da proteoglicani, ac. ialuronico e proteine di adesione (queste ultime non descritte in precedenza, perché isolate e caratterizzate negli ultimi anni); la seconda da collageni (fibrille collagene e reticolari della definizione classica) ed elastina (fibre elastiche).

Particolare rilevanza per la comprensione del ruolo della m. e. nello sviluppo embrionale, nell'omeostasi dei tessuti e nella patologia viene oggi ascritta all'eterogeneità dei suoi componenti, che verrà trattata con maggiore enfasi in questa voce (v. inoltre: CONNETTIVO TESSUTO; COLLAGENE [IV, 500]; COLLAGENE*; ELASTINA*; FIBRONECTINA*).

### Struttura e ruolo dei componenti della matrice extracellulare

Le cellule dei vertebrati variano grandemente in forma e dimensioni, in base alle specifiche funzioni che svolgono nell'organismo. Tali funzioni, altamente specializzate, sono finemente coordinate grazie a una costante interazione, che avviene, sia a distanza (mediante ormoni e neurotrasmettitori), sia attraverso contatti specifici che si sviluppano con sorprendente precisione nell'embriogenesi e sono mantenuti e perfezionati nell'età adulta. Tali interazioni non sarebbero possibili senza l'esistenza di una m. e. Esempi di tali interazioni specifiche sono rappresentati dai rapporti tra epiteli e cellule mesenchimali sottostanti, tramite la membrana basale (Dodson, 1963), dalla crescita assonale che dipende dalla presenza di laminina e proteoeparansolfato (Baron van Evercooren *et al.*, 1982), dalla crescita di cellule endoteliali che richiede eparine per legare specifici fattori di crescita (Folkman e Klagsbrun, 1987).

Conseguenza di tale considerazione è che la molteplicità e la diversità di queste specifiche interazioni richiedono altrettanti specifici microambienti, ognuno caratterizzato da un particolare tipo o famiglia delle macromolecole che costituiscono la struttura della matrice.

In base alle recenti acquisizioni sulla natura biochimica dei componenti della matrice, è oggi possibile utilizzare una nuova classificazione, rispetto a quella su citata, che suddivide le macromolecole del connettivo in 3 principali famiglie: i proteoglicani (e l'ac. ialuronico), le proteine di tipo collagene e le proteine non collagenose. In questa voce saranno esaminate le attuali conoscenze, peraltro ancora preliminari, sulle varie forme di proteoglicani, collageni e proteine non collagenose, e saranno brevemente discusse le correnti ipotesi sul loro possibile significato embriologico e funzionale. Per quanto riguarda l'aspetto strutturale, soltanto i proteoglicani e le glicoproteine di adesione saranno trattati in un certo dettaglio (per collagene ed elastina si rimanda alle voci già esistenti).

### Proteoglicani

I proteoglicani sono macromolecole costituite da un polipeptide centrale cui sono covalentemente legati glicosaminoglicani (GAG). I principali glicosaminoglicani legati ai proteoglicani sono i seguenti: condroitinsolfato, cheratansolfato, dermatansolfato, eparansolfato. L'ac. ialuronico è l'unico glicosaminoglicano che non ha legami covalenti con proteine ma interagisce elettrostaticamente con molti diversi proteoglicani.



Digitized by Google

Le proteine centrali, o *core*, possono variare di peso molecolare, ma di solito sono piuttosto grandi; sono tutte sintetizzate come prodotti di secrezione (nel reticolo endoplasmatico granulare), ma alcune presentano una sequenza idrofobica che le ancora al doppio strato lipidico rendendole tipiche proteine transmembrana della superficie cellulare (ad es., alcuni proteoeparansolfati). Tutti i glicosaminoglicani (eccetto l'ac. ialuronico) si possono legare all'idrossile della serina attraverso un legame *o*-glicosidico e una caratteristica sequenza di zuccheri (xiloso-galattoso-galattoso-ac. glicuronico), che prosegue poi con la caratteristica unità disaccaridica (ripetuta un numero variabile di volte) costituita da un'esosamina acetilata e da un ac. uronico (uno o entrambi dei quali possono essere solforati in posizione 4 o 6 dell'anello glicosidico). Fa eccezione il cheratansolfato, per essere composto da galattoso al posto dell'ac. uronico e per essere legato all'ossidrile della serina (o treonina) attraverso un'acetilgalattosamina.

Ogni proteina *core* può legare un numero variabile di catene di un solo o più tipi di glicosaminoglicani e, di solito, presenta anche oligosaccaridi più piccoli, tipici delle glicoproteine, legati sia all'ossidrile di serina e treonina (O-*linked*) che al gruppo aminico dell'asparagina (N-*linked*). Inoltre possiede regioni non glicosilate che sono responsabili del legame (quando presente) all'ac. ialuronico. Tale legame è stabilizzato (almeno nella cartilagine) da piccole glicoproteine dette *link proteins*. Uno schema del proteoglicano maggiore della cartilagine è rappresentato in fig. 1, a titolo esemplificativo. Infatti, le conoscenze attuali derivano principalmente dal proteoglicano maggiore della cartilagine, primo a essere isolato e studiato in dettaglio (Hascall, 1977). Le sue caratteristiche generali possono essere estese alla maggior parte degli altri proteoglicani, ognuno dei quali presenta però alcune peculiarità che lo distinguono da tutti gli altri, relativamente a peso molecolare, tipo e numero di glicosaminoglicani legati, legame all'ac. ialuronico e tessuto di appartenenza.

Ogni proteina di uno specifico proteoglicano è il prodotto di uno specifico gene (alcuni dei quali sono stati recentemente clonati e caratterizzati) che viene espresso soltanto in alcuni tipi cellulari e che viene glicosilato con differenti catene di GAGs (condroitino o dermatano o eparano o cheratano) le quali possono ancora variare per lunghezza della catena, grado di solfatazione e tipo di ac. uronico. Da ciò segue che le possibili combinazioni di proteoglicani di cui ogni cellula può circondarsi sono teoricamente infinite e di fatto numerosissime. Poiché ognuno di questi proteoglicani è dotato di diverse caratteristiche idrodinamiche, di diverse capacità di legame per l'ac. ialuronico o per altre proteine della matrice, i diversi tessuti possono modificare drammaticamente la viscosità e il contenuto d'acqua, variando il tipo di proteoglicano. Per di più, cambiamenti

Fig. 1. Rappresentazione schematica di un monomero di proteoglicano che interagisce con l'ac. ialuronico e una proteina di legame. Un diagramma della composizione di condroitinsolfato, cheratansolfato, ac. ialuronico e oligosaccaridi O-*linked* è mostrato negli inserti. Le abbreviazioni sono Gal: galattoso; GalNAc: N-acetilgalattosamina; GlcNAc: N-acetilglicosamina; GlcUA: ac. glicuronico; NANA: ac. N-acetilneuraminico (ac. sialico); S: solfato; SER: serina; TRE: treonina; Xyl: xiloso.







Digitized by Google

qualitativi e quantitativi sia delle proteine *core* che della struttura glicosidica, sono descritti nello sviluppo embrionale, come nell'invecchiamento e in varie forme di patologie primitive del connettivo (Kresse *et al.*, 1981; Pulkinnen *et al.*, 1990; Trautman *et al.*, 1991).

I proteoglicani sono attualmente oggetto di un'intensa ricerca, poiché ancora molto deve essere conosciuto della loro struttura e funzione; ma è ormai accettato che essi svolgono un ruolo fondamentale nella normale fisiologia delle cellule e dei tessuti e che disturbi del loro metabolismo possono portare a vari cambiamenti patologici.

Un'ampia trattazione dei proteoglicani è svolta sotto la voce MUCOPOLISACCARIDI (IX, 2078).

**I collageni**

Il numero di proteine che vengono correntemente chiamate *collagene* è in continua crescita, e si potrà qui dare soltanto un'idea approssimativa di questa crescente complessità (per recenti rassegne consultare: Bornstein e Sage, 1980; Miller e Gay, 1982; Gordon e Olsen, 1990). Di recente si è stabilito quali requisiti una proteina deve possedere per essere definita *collagene*: 1) una tipica tripla elica di collagene che si estenda per la maggior parte della molecola, con glicina, presente ogni 3 aminoacidi, e prolina e idrossiprolina, necessari per formare e stabilizzare la tripla elica (molte proteine, quali elastina e osteocalcina, contengono idrossiprolina ma non sono collageni); 2) una funzione strutturale nella m. e. (per essere collagene non è necessario formare fibrille) e pertanto enzimi, quali l'acetilcolinesterasi, che possiede una coda tipo collagene, non sono inclusi in questa definizione (per la struttura, v. COLLAGENE*).

Un tentativo di classificazione dei differenti tipi di collagene con riguardo alla loro funzione nella m. e. (Mayne, 1983) è presentato qui di seguito.

1. *Collagene tipo I*. – Due catene I(I) e una 2(I). È il più abbondante collagene di tutti i tessuti connettivi (cute, tendini, osso, dentina, cornea, etc.) e ha la capacità di formare fibrille con orientamento parallelo che sono spesso di diametro definito (tendini) od organizzate in reticoli ortogonali (cornea) o in fasci irregolari (osso). È largamente ignoto come le fibrille siano organizzate; inoltre, altre proteine (fibronectina) o proteoglicani o altri collageni possono influenzare questo processo. Un sottotipo è rappresentato dal trimero 1(I), descritto in cellule in coltura, nei tumori e in genere nei tessuti in rapida crescita. Sembra derivare da assemblaggio in assenza di sufficiente 2(I) e la sua sintesi è più lenta del tipo I normale (Bornstein e Sage, 1980).

2. *Collagene tipo II*. – Tre catene I(II). È il principale collagene della cartilagine ialina, dell'umor vitreo e della notocorda. Si trova, in associazione al tipo I nei dischi intervertebrali. La sua sequenza è molto simile alla catena 1(I) e sembra possedere la capacità unica di formare un delicato intreccio di fibrille sottili in cui i proteoglicani sono intrappolati (Mayne e Von der Mark, 1983). Il controllo dell'assemblaggio di questo intreccio è totalmente sconosciuto.

3. *Collagene tipo III*. – Tre catene I(III). Si trova in discreta quantità nei connettivi e in vari organi, quali cute, polmoni, fegato, ma manca nella dentina e nell'osso. Sembra formare piccole fibrille in cui l'aminopeptide del procollageno (che viene rimosso prima della secrezione) rimane invece presente. È stato proposto che le sottili fibrille del collageno tipo III rappresentino le fibrille reticolari dell'istologia classica. In realtà, questa è soltanto un'ipotesi e recenti studi di immunomicroscopia elettronica sembrano invece suggerire che le fibre reticolari siano formate da tipo I e tipo III, mentre le classiche fibre collagene solo da tipo I. In altre parole la proporzione di tipo III in una data fibrilla sarebbe inversamente proporzionale al suo diametro (Henkel e Glanville, 1982).

4. *Collagene tipo IV*. – Due catene 1(IV) e una catena 2(IV). Nei tumori esiste qualche evidenza di trimeri 1(IV) o 2(IV). È presente in tutte le membrane basali, indipendentemente dalla loro origine embriologica. La molecola è caratterizzata da regioni tipo collagene e da regioni non collagenose e ci sono anche interruzioni delle regioni a tripla elica che risultano in una certa flessibilità della molecola. Il p.m. è di circa 185.000 per 1 e 175.000 per 2, con poche modificazioni postraduzionali. Le regioni aminoterminali si legano tra loro formando una rete, mentre le regioni carbossiterminali contengono la parte non collagenosa.

5. *Collagene tipo V*. – Catene: 1(V), 2(V), 3(V), 4(V). La forma predominante contiene due catene 1(V) e una catena 2(V), ma sono possibili molte altre combinazioni. È presente in piccola quantità in tutti i connettivi (tranne la cartilagine). La sua funzione è totalmente oscura. Presenta regioni non collagenose a entrambe le estremità della molecola. È stato suggerito che il tipo V si associ al tipo I e al tipo III, mantenendoli in posizione e favorendo la loro organizzazione sopramolecolare. A sostegno di questa teoria è la sua relativa abbondanza nella cornea, che presenta un reticolo altamente organizzato.

6. *Collagene tipo VI*. – Catene: probabilmente 3 di natura sconosciuta. È isolato dai vasi sanguigni, dalla placenta (villi) e dall'utero dopo digestione con pepsina come aggregato stabilizzato da ponti disolfuro. Sembra possedere domini globulari a entrambe le estremità, grazie a cui forma ponti disolfuro con analoghe molecole per dare origine a tetrameri che si associano a formare speciali fibrille. Si suppone che sia il componente delle microfibrille di 10-20 nm osservate nei vasi e in altri tessuti connettivi.

7. *Collagene tipo VII*. – È stato recentemente isolato da amnios umano e appare formato da una tripla elica lunga circa 450 nm. Forma dimeri con sovrapposizione di 60 nm e si ritiene che formi fibrille ancoranti le membrane basali degli epiteli.

Esistono poi numerosi collageni minori, quali quelli della cartilagine, altre varianti delle principali catene, i frammenti ad alto e basso peso molecolare, le catene corte (SC) la cui caratterizzazione è tuttora in corso e il cui significato fisiologico rimane totalmente oscuro.

**Le proteine non collagenose**

Una nuova famiglia di glicoproteine della m. e., le proteine di adesione, è stata identificata come elemento chiave dell'interazione tra cellule e matrice. Le principali proteine di questo gruppo includono fibronectina e laminina e, meno caratterizzate, la fibrillina, l'osteonectina e la condronectina. Queste glicoproteine promuovono l'adesione delle cellule al substrato, ne modificano la morfologia, la crescita, il differenziamento e la migrazione *in vitro* e presumibilmente *in vivo* nello sviluppo e nella fisiopatologia tessutale. Inoltre, poiché interagiscono con collageni e proteoglicani, regolano la formazione della matrice stessa.

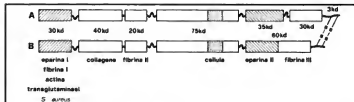
1. *Fibronectina*. – La fibronectina (v.*) è probabilmente la proteina di adesione meglio caratterizzata, di cui è nota la capacità di legare un numero di molecole della matrice (Hynes, 1986; Yamada, 1983). Specifiche regioni della molecola (che è un dimero di 2 catene simili, 230.000 e 225.000, unite da ponti disolfuro) possiedono capacità di legame per l'eparina, l'actina, il collagene tipo I, la superficie cellulare (specialmente di fibroblasti), la fibrina.

La fibronectina esiste in forma solubile nel sangue, il plasma ne contiene 0,3 g/l (fibronectina plasmatica) e si





Digitized by Google

Fig. 2. Mappa dei domini funzionali della fibronectina da plasma umano. Ogni rettangolo indica un diverso dominio funzionale, caratterizzato da una specifica capacità di legame con altre molecole sotto indicate. Il relativo peso molecolare è indicato in kilodalton. Notare che le due catene differiscono al carbossiterminale.

ritiene che la sua sintesi avvenga nel fegato; i fibroblasti sintetizzano una fibronectina cellulare relativamente insolubile e formano complicati intrecci sulla superficie delle cellule e nella matrice (Yamada e Kennedy, 1979). Inoltre le cellule embrionali precoci (embrioblasto, amniociti e carcinoma embrionale) sintetizzano una diversa forma di fibronectina (embrionale) a più alto p. m. (230.000 invece di 220.000) e diversamente glicosilata (Cossu e Warren, 1983). A tutt'oggi sono state evidenziate solo modeste differenze funzionali tra questi diversi tipi di fibronectine, che derivano da diverso processamento del pre-mRNA trascritto da un unico gene (Hirano *et al.*, 1983).

2. *Laminina*. – Molta attenzione è stata recentemente rivolta alla laminina. È questa una glicoproteina presente nelle membrane basali, di p. m. elevato ($10^6$), costituita da 3 catene B (200.000 l'una) e da una catena A (600.000) unite da ponti disolfuro a formare una croce di cui A è il braccio lungo (Timpl *et al.*, 1979). La laminina presenta specifici siti di legame per il collagene tipo IV e per il proteoeparansolfato, con cui forma una rete non fibrillare nella lamina densa delle membrane basali (Kleinman *et al.*, 1982). Inoltre la laminina presenta un sito di legami preferenziale per cellule epiteliali di cui favorisce l'adesione, a differenza della fibronectina che lega preferenzialmente cellule mesenchimali (Terranova *et al.*, 1980). Infine, la laminina favorisce la fuoriuscita e la crescita di assoni da cellule neuronali *in vitro*, con efficienza maggiore della fibronectina (Baron van Evercoorer *et al.*, 1982). È stata identificata una nuova isoforma, S laminina, la cui espressione è ristretta alle membrane basali della sinapsi neuromuscolare e del glomerulo renale (Hunter *et al.*, 1989).

3. *Fibrillina*. – È una glicoproteina da 350 kd, in via di caratterizzazione.

**Conclusioni**

Questa descrizione schematica e, per necessità di spazio, incompleta della crescente varietà e polimorfismo dei vari componenti della m. e. dovrebbe rivelare un primo squarcio sulla complessità delle interazioni necessarie per legare insieme miliardi di cellule diverse, quali quelle che formano il corpo dei vertebrati. La specificità di tali interazioni si è sviluppata utilizzando differenti strategie evolutive, dalla evoluzione di famiglie di geni, come nei collageni, all'impiego di *splicing* differenziale, come nella fibronectina, di cui esiste solo un gene, alla formazione di differenti apparati di glicosilazione in cellule diverse, che possono ulteriormente modificare prodotti primari dei geni suindicati. È ovvio che molto lavoro è ancora necessario prima di arrivare a una conoscenza completa di queste molecole. È altresì ovvio che tale conoscenza è un prerequisito per comprendere fino al dettaglio molecolare l'organizzazione tridimensionale della m. e., speciale colla che si è evoluta durante centinaia di milioni di anni (la fibronectina, ad es., è presente in tutti gli organismi animali fin dai poriferi) per organizzare le strutture corporee di organismi multicellulari.

**Bibliografia**

Baron van Evercooren P. A. *et al.*, *J. Neurosci. Res.*, 1982, **8**, 179.
Bornstein P., Sage H., *Ann. Rev. Biochem.*, 1980, **49**, 957.
Cossu G., Warren L., *J. Biol. Chem.*, 1983, **258**, 5603.
Dodson J. W., *Exp. Cell Res.*, 1963, **31**, 233.
Folkman J., Klagsbrun K., *Science*, 1987, **235**, 442.
Gallagher G. *et al.*, *Biochem. J.*, 1982, **236**, 313.
Goetnick P. F., *The Glycoconjugates*, 1982, vol. III, Academic Press, New York, p. 197.
Gordon M. K., Olsen B. R., *Curr. Op. Cell Biol.*, 1990, **2**, 833.
Hascall V., *J. Supramol. Struct.*, 1977, **7**, 101.
Henkel W., Glanville R. V., *Eur. J. Biochem*, 1982, **122**, 205.
Hirano H. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1983, **80**, 46.
Hunter D. D., *Nature*, 1989, **338**, 229.
Hynes R. O., *Scient. Amer.*, 1986, **48**, 32.
Kleinman H. K. *et al.*, *Biochem*, 1982, **21**, 6188.
Kresse K. *et al.*, *Klin. Wochenshr.*, 1981, **59**, 867.
Mayne R., *The role of extracellular matrix in development*, 1983, Alan Lyss, New York, p. 33.
Mayne R., Von der Mark K., *Cartilage*, 1983, vol. I, Academic Press, New York, p. 181.
Miller E. J., Gay S., *Meth. Enzymol.*, 1982, **82**, 3.
Poole A. R., *Biochem J.*, 1986, **236**, 1.
Pulkinnen L. *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 1990, **265**, 17780.
Terranova V. P. *et al.*, *Cell*, 1980, **22**, 719.
Timpl R. *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 1979, **254**, 9933.
Trautman M. S. *et al.*, *Development*, 1991, **111**, 213.
Yamada K. M., Kennedy D. W., *J. Cell Biol.*, 1979, **80**, 491.
Yamada K. M., *Ann. Rev. Biochem.*, 1983, **52**, 761.
Yamada K. M. *et al.*, *The role of extracellular matrix in development*, 1983, Alan Liss, New York, p. 89.

GIULIO COSSU

## MATRIMONIO [v. vol. IX, col. 507]

**Matrimonio religioso**

Il codice canonico attualmente in vigore al can. 1084 prescrive: «L'impotenza copulativa antecedente e perpetua, sia da parte dell'uomo sia da parte della donna, assoluta o relativa, rende nullo il matrimonio *ex ipsa eius natura*. Se l'impedimento di impotenza è dubbio, sia per dubbio di diritto, sia per dubbio di fatto, il matrimonio non deve essere impedito né, stante il dubbio, dichiarato nullo. La sterilità non dirime il matrimonio, né l'impedisce». Impotente è colui che è inetto alla copula (*ineptitudo ad erectionem et penetrationem penis et ad effusionem veri seminis in vagina mulieris: actio humana*).

FERDINANDO ANTONIOTTI

## MEDIASTINO [v. vol. IX, col. 545]

### DIAGNOSTICA PER IMMAGINI

SOMMARIO







Digitized by Google

## RADIOLOGIA CONVENZIONALE

### Introduzione

La radiodiagnostica tradizionale ha sempre considerato il mediastino come una «zona di rispetto», ricca di strutture non identificabili, delimitata dai confini convenzionali, inesplorabile con le comuni tecniche radiografiche (fig. 1). Testimoniano questo fatto le diverse espressioni con cui i radiologi hanno usato indicare il m.: ombra mediana, opacità centrale, immagine cardiovascolare; altra testimonianza è costituita dalla elevata frequenza con cui si ricorreva in passato all'uso della tomografia e delle metodologie contrastografiche.

Il mito del m. inesplorabile è definitivamente caduto all'inizio degli anni '70 quando, in base a rigorose correlazioni anatomoradiologiche e con l'uso di tecniche radiografiche ad alte tensioni, si è dimostrato che il semplice radiogramma frontale del torace è sufficiente per identificare numerose entità anatomiche all'interno dei profili tradizionali del m. (Felson, 1979; Fraser e Parè, 1978; Heitzman, 1977). Nascevano così una nuova semeiotica ed un nuovo linguaggio (Rémy, 1976), ormai ampiamente diffusi anche in Italia (Bergonzini *et al.*, 1981; Cammisa, 1981; Pedicelli, 1981) ed in gran parte adottati anche nel glossario della TC e della RMN. L'«ombra mediana» si è trasformata in una regione riccamente strutturata (fig. 2). Alla base della nuova semeiotica ci sono *presupposti tecnici* e considerazioni di ordine anatomo-radiologico che definiremo come *presupposto culturale*.

### Presupposti tecnici

Senza voler entrare nel merito dei vantaggi dell'impiego delle alte tensioni (AT), dell'ordine di 120-150 kV, è necessario tuttavia sottolineare che il loro uso costituisce un presupposto tecnico indispensabile per un corretto studio del m.; è noto infatti che le radiazioni «molli», impiegate nella diagnostica tradizionale del torace, vengono in gran parte assorbite dagli organi mediastinici senza che ne derivi alcuna immagine. Le AT hanno però l'inconveniente di «bruciare» il polmone ed il confine mediastino-polmonare, facendo perdere molte informazioni sul radiogramma; a questo inconveniente si può ovviare con l'uso combinato di pellicole ad ampia latitudine di esposizione e di opportuni filtri polmonari (FP): questi ultimi hanno lo scopo di creare una continuità radiografica che consenta di rappresentare, su un unico radiogramma frontale, sia le strutture polmonari che quelle mediastiniche (Pedicelli, 1981; Vlasbloem e Schultze Kool, 1988). Lo stesso risultato può essere ottenuto nell'indagine stratigrafica per piani frontali (fig. 3).

L'inserimento dei FP determina una favorevole modificazione del fascio incidente di radiazioni. Inoltre, i dati dosimetrici, ottenuti sperimentalmente in fantoccio antropomorfo, hanno dimostrato che l'uso delle AT con FP riduce notevolmente la dose al paziente.

### Presupposto culturale anatomo-radiologico

Oltre ai presupposti tecnici, per una moderna lettura del m. è fondamentale tener presente la seguente considerazione di ordine anatomico: la pleura mediastinica si modella sul contorno degli organi che sporgono nei due lati del m. realizzando *linee di tangenza* che prendono il nome della struttura anatomica con cui la pleura viene a contatto (fig. 4, *in alto*). Nella fig. 4, *a lato*, sono riportate le principali linee di tangenza, meglio note come *linee paramediastiniche* (LPM); una buona conoscenza dell'anatomia e del corrispettivo radiologico normale di queste linee è essen-

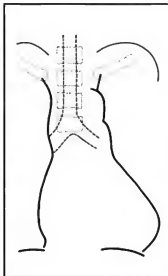
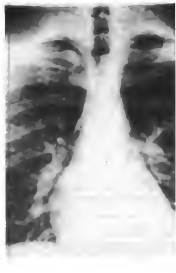



Fig. 1. Il radiogramma tradizionale (*a sinistra*), eseguito con tecnica a basse tensioni, si rivela inadeguato per la documentazione dei confini reali del m. rispetto al parenchima polmonare. La semeiotica radiologica risulta povera: ne consegue un atteggiamento estremamente incerto da parte del radiologo nella costruzione della diagnosi. Lo schema, posto *a destra* dell'immagine radiografica, mostra unicamente i confini convenzionali del m. all'interno dei quali non è riconoscibile alcuna struttura.



Digitized by Google

Fig. 2. Il moderno radiogramma del torace, eseguito con la tecnica delle alte tensioni (*a sinistra*), consente di «spogliare» il m., di riconoscerne i confini reali e individuare al suo interno numerose strutture, note come «linee paramediastiniche», le principali delle quali vengono riportate in figura: 1) linea di giunzione pleurica posteriore; 2) linea paratracheale destra; 3) recesso azygos-esofageo; 4) linea paraesofagea; 5) linea para-arteriosa superiore di sinistra; 6) finestra aortopolmonare; 7) linea paraspinale sinistra; 8) linea paraortica sinistra. Lo schema, posto *a destra* dell'immagine radiografica, vuole dimostrare la complessità ma anche la ricchezza semeiologica offerta dal moderno radiogramma eseguito con alte tensioni.

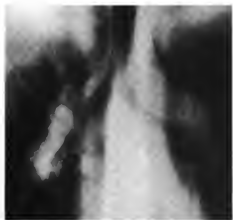
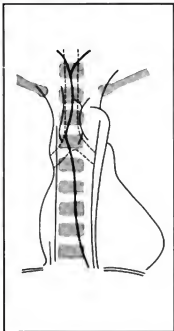



Fig. 3. La tomografia del m., se opportunamente modulata con filtri polmonari, consente un'accurata documentazione delle strutture intra- e para-mediastiniche, evitando eccessive differenze di contrasto che farebbero perdere la continuità anatomica fra le diverse strutture. Si noti, in particolare, la perfetta documentazione dell'asse tracheobronchiale sul piano coronale, con una definizione spaziale attualmente non ottenibile con nessun'altra metodologia di diagnostica per immagini.

ziale e costituisce un «presupposto culturale» della moderna semeiotica radiologica del m.

Riteniamo utile illustrare brevemente le più importanti LPM e recessi paramediastinici e commentarne l'utilità semeiologica. Gran parte di tali strutture sono divenute patrimonio semeiologico anche delle metodologie d'immagine digitale.

1) *Linea di giunzione pleurica posteriore* (fig. 5). – Rappresenta la linea di contatto posteriore tra i due polmoni; essa si realizza nel m. posteriore all'altezza di DII-DIV ed è visibile sul radiogramma frontale del torace nell'80% dei casi. Può essere deformata da processi espansivi del m. posteriore, specie di origine esofagea: è frequentemente spostata e/o deformata in caso di erniazioni mediastiniche posteriori di uno dei due polmoni. Può essere cancellata da processi patologici adiacenti.

2) *Linea di giunzione pleurica anteriore*. – Rappresenta la linea di contatto anteriore tra i due polmoni subito dietro lo sterno: si realizza nel m. anteriore proiettivamente da DIV-DVI. La sua osservazione sul radiogramma frontale del torace (fig. 6, *A*) è meno frequente rispetto alla precedente, mentre lo è sempre alla TC. È meglio apprezzabile in caso di spostamento anche modesto (fig. 6, *B*) o di erniazione vistosa di un polmone attraverso il m. anteriore (fig. 6, *C*).

3) *Linea paratracheale destra*. – È dovuta alla tangenza tra il parenchima del lobo superiore di destra e la parete tracheale omolaterale. La linea opaca (fig. 5) è propriamente costituita dalla parete tracheale e dalla pleura mediastinica; vi è contenuta la catena linfatica che drena tutta la linfa del polmone destro e della metà inferiore di sinistra. A parte le modificazioni di forma, questa linea deve





Digitized by Google

essere considerata patologica se il suo spessore supera i 5 mm. Le cause più frequenti di patologia sono dovute a: tumefazioni linfonodali (figg. 7 e 10), ispessimento o versamento pleurico, infiltrazione del parenchima polmonare.

4) *Recesso azygos-esofageo.* – È un piccolo recesso che si forma per riflessione della pleura mediastinica tra l'arco dell'azygos, nella sua porzione ascendente, e l'esofago. In condizioni normali esso è ben rappresentato sul radiogramma del torace, meglio se eseguito con esofagogramma, ma risulta più definito in tomografia (fig. 8, *A*). Si presenta sotto forma di un piccolo arco ad ampio raggio, con

Fig. 5. Le *frecce piene* indicano la linea di giunzione pleurica posteriore in posizione mediana. Le *frecce vuote* mostrano la linea paratracheale di destra.

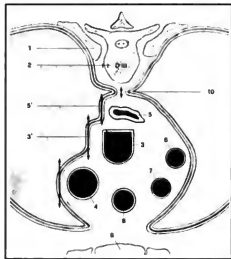



Fig. 4. *In alto*: schema di taglio assiale del m. all'altezza della terza vertebra toracica (DIII): lo schema vuole dimostrare la modalità con cui si formano sul radiogramma le *linee paramediastiniche*, per incidenza tangenziale del fascio di raggi X, rispetto alla pleura mediastinica, la quale si riflette a ridosso degli organi che sporgono sui profili mediastinici: ciascuna linea di tangenza assume il nome dell'organo a ridosso del quale la pleura stessa si riflette. 1) III costola; 2) III vertebra toracica; 3) trachea; 3') linea di contatto pleurica con la parete tracheale destra; 4) vena cava superiore; 5) esofago; 5') linea di contatto pleurica con la parete destra dell'esofago; 6) arteria succlavia sinistra; 7) arteria carotide comune sinistra; 8) tronco arterioso brachiocefalico; 9) sterno; 10) linea di giunzione pleurica posteriore. Nello schema *a lato* sono riportate le principali linee paramediastiniche che vengono trattate dettagliatamente nel testo.





Digitized by Google

Fig. 6. *A*) Linea di giunzione pleurica anteriore in posizione paramediana. In *B*) tale linea è sostituita da un nastro opaco a decorso obliquo, spostato verso sinistra rispetto alla linea mediana con conseguente parziale erniazione del polmone di destra attraverso il m. anteriore. In *C*) la linea di giunzione pleurica anteriore è osservabile, con decorso verticale, al 3° medio dell'emitorace di destra con conseguente vistosa erniazione del polmone di sinistra attraverso il m. anteriore: il reperto è da correlare con ipoplasia del polmone di destra.

concavità rivolta verso destra e in basso, definito da una linea molto netta e regolare. Diviene più ampio e ben documentabile in caso di spostamento dell'esofago verso sinistra, come accade nella scoliosi dell'aorta discendente (fig. 8, *B*). Può essere deformato da patologia primitiva dell'esofago, per metastasi linfonodali da carcinoma polmonare o per interessamento linfonodale da patologia sistemica. Altre cause di deformazione possono derivare da patologia espansiva o anomalie dell'arco dell'azygos, ingrandimento atriale sinistro, patologia pleurica.

5) *Linea paraesofagea inferiore.* – È dovuta alla tangenza tra il lobo polmonare inferiore di destra e l'opacità mediastinica lungo la doccia compresa tra vena azygos e parete laterale destra dell'esofago. È visibile nel 90% dei soggetti (fig. 8, *A* e *B*). Più marcata negli enfisematosi, si estende dall'arco dell'azygos all'orifizio esofageo del diaframma: l'associazione dell'esofagogramma consente di valutare lo spessore reale della parete esofagea (fig. 9). L'analisi di questa linea consente di rilevare lesioni dovute a: processi espansivi della parete esofagea, ernie iatali, tumefazioni linfonodali paraesofagee da metastasi o da patologia sistemica (fig. 11), ingrandimento atriale sinistro, patologia della pleura mediastinica.

6) *Finestra aorto-polmonare (FAP).* – È un recesso pleuropolmonare compreso tra l'arco dell'aorta in alto, ed il ramo di sinistra dell'arteria polmonare in basso (v. sopra fig. 2).

È di scarso rilievo nel bambino. Si forma nell'adulto e diviene molto evidente nei soggetti affetti da broncopneumopatia cronica ostruttiva. La parete più mediale del recesso può prendere contatto col bronco principale di sinistra, con l'esofago, con i linfonodi del dotto arterioso di Botallo (anche detti «della FAP»), col nervo laringeo ricorrente di sinistra, col nervo vago. Tutti i processi espan-





Digitized by Google

Fig. 7. Esteso slargamento della linea paratracheale di destra, imputabile ad ingrandimento della catena linfatica, da correlare con processo espansivo di origine neoplastica localizzabile nell'angolo tracheo-bronchiale dello stesso lato.

sivi a partenza dalle strutture citate possono alterare precocemente il profilo della FAP, la cui semeiotica radiologica assume pertanto grande rilievo. È frequente l'impegno linfonodale in corso di patologia sistemica (fig. 10). La FAP può essere ridotta o deformata anche nei casi di aumento di calibro o di spostamenti craniali dell'arteria polmonare sinistra o nell'aneurisma dell'arco aortico.

7) *Linea paraortica sinistra.* – È dovuta alla tangenza della pleura mediastinica che si riflette a ridosso della parete esterna dell'aorta discendente; è la linea di più costante e nitida osservazione (fig. 2) e perciò costituisce un'importante guida di riferimento semeiologico specie nei casi dubbi (fig. 11).

8) *Linee paraspinali destra e sinistra.* – Sono dovute alla tangenza dei lobi polmonari inferiori che si modellano sul rachide dorsale per una estensione che va, mediamente, dalla V alla XII vertebra toracica; hanno aspetto rettilineo (fig. 2). Possono modificare tali linee: processi espansivi a partenza vertebrale (fig. 12, *A* e *B*), radicolare, dalla pleura mediastinica, dai linfonodi delle catene paraspinali. La distanza della linea paraspinale di sinistra dai corpi vertebrali è influenzata dall'andamento dell'aorta discendente per cui, nell'adulto, essa appare più esterna rispetto all'adolescente; esiste in tal senso un rapporto costante tra il decorso della linea paraortica, di quella paraspinale e di quella paraesofagea (fig. 8, *B*).

In linea con la letteratura più attuale, riteniamo che il radiogramma frontale del torace costituisca un esame fon-

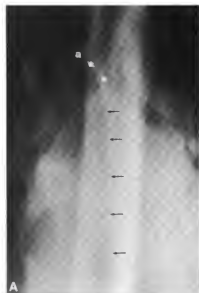



Fig. 8. Tomografia. *A*) Le *frecce bianche* indicano una normale configurazione del recesso azygos-esofageo. Le *frecce nere* mostrano il decorso della linea paraesofagea inferiore (il termine «inferiore» è relativo all'arco dell'azygos, potendo essere identificabile una linea paraesofagea superiore rispetto allo stesso arco); a = arco dell'azygos. *B*) Si osserva un recesso azygos-esofageo più ampio: questo reperto è osservabile in tutti i casi di scoliosi più o meno accentuata del tratto discendente dell'aorta; in questi casi infatti la linea paraesofagea si sposta verso sinistra seguendo fedelmente il decorso dell'aorta toracica discendente.





Digitized by Google

Fig. 9. Le *frecce* indicano la porzione distale della linea paraesofagea, interrotta nella sua metà superiore da grossolano processo espansivo di natura eteroplastica. La contestuale opacizzazione del lume esofageo consente di dimostrare le alterazioni del viscere e di misurare lo spessore della parete esofagea, ancora intatta nella metà inferiore.

Fig. 10. Le *piccole frecce piene* indicano un circoscritto processo espansivo dovuto a tumefazioni linfonodali che cancellano il profilo esterno della linea paratracheale di destra. Un processo espansivo più esteso, indicato dalle *frecce vuote*, è localizzabile nel m. anteriore: esso non contribuisce alla cancellazione della linea paratracheale. La *freccia piena più grande* mostra una inversione del profilo della finestra aorto-polmonare, correlabile con processo espansivo, anch'esso di natura linfonodale.

Fig. 11. Le tumefazioni linfonodali documentate in questo radiogramma configurano un vistoso processo espansivo di pertinenza del m. posteriore che cancella e deforma la linea paraesofagea di destra (*frecce* disposte lungo una linea orizzontale); altre tumefazioni linfonodali circoscritte (indicate dalla lettera L) determinano deformazione e spostamento verso sinistra delle linee paraspinale e paraortica.

damentale e spesso sufficiente per lo studio del m. (v. anche: TORACE).

Per ottenere un radiogramma idoneo è richiesta una tecnologia estremamente semplice; essa consente, fra l'altro, una significativa riduzione del ricorso al radiogramma in proiezione laterale: ciò concorda con le recenti raccomandazioni dell'OMS, che considera il più delle volte superfluo questo radiogramma. Siamo convinti che nell'ambito dei presupposti tecnici da noi descritti ci sia spazio per soluzioni originali o diverse che possono scaturire anche dal tipo di attrezzatura disponibile. Noi stessi vogliamo qui segnalare i risultati particolarmente utili ottenibili con lo studio dello *emitorace opaco* (fig. 13): la disponibilità di filtri estremamente versatili ci ha consentito infatti di personalizzare la tecnica, ottenendo una buona omogeneizzazione dell'immagine. L'emitorace opaco, comunemente ritenuto un grosso limite della radiologia convenzionale trova dunque un notevole vantaggio nel moderno radiogramma. Anche qui il riconoscimento delle LPM risiede sul concetto anatomoradiologico costituito dalle modalità con cui le linee di riflessione pleurica si formano e si trasferiscono sul radiogramma





Digitized by Google

A

B

Fig. 12. *A*) Esame diretto e *B*) esame tomografico: le due immagini mostrano un'estesa carie vertebrale accompagnata da ascesso ossifluente che, sui due lati, determina slargamento ed aspetto bombato delle due linee paraspinali.

frontale del torace, «per tangenza» rispetto al raggio incidente.

Del tutto recentemente è stato proposto dalla Kodak il sistema AMBER (Vlasbloem e Schultze Kool, 1988): un sistema di radiografia del torace a scansione, caratterizzato da estrema equalizzazione dell'immagine radiografica con conseguente esaltazione di tutte le componenti anatomiche del torace e quindi anche del m. (fig. 14).

Fig. 13. Il radiogramma post-operatorio, opportunamente modulato con filtri polmonari, consente di dimostrare gli esiti della pneumonectomia sinistra, documenta correttamente il moncone del bronco principale, la carena tracheale, e le strutture mediastiniche spostate, senza togliere informazioni sul polmone di destra parzialmente erniato verso sinistra.

In futuro si prevede un sensibile sviluppo della radiografia digitale del torace le cui prime esperienze mostrano, fra le altre cose, una chiara esaltazione della lettura del m. in termini di «linee di riflessione pleurica».

Fig. 14. Il radiogramma del torace, ottenuto con il sistema AMBER, rappresenta oggi il risultato più avanzato fra quelli prodotti dai diversi sistemi di equalizzazione in radiologia convenzionale. (*Immagine riprodotta per cortesia della Kodak S.p.A.*).





Digitized by Google

A conclusione vogliamo sottolineare come oggi il radiologo abbia la possibilità di affrontare, in modo adeguato, la diagnostica del m. anche con tecnologia modesta. Siamo convinti che la disponibilità della TC e della RMN non debba giustificare il «salto» della tecnologia più semplice, la quale è ancora in grado di risolvere la stragrande maggioranza dei problemi diagnostici in ambito toracico (Woodring e Daniel, 1986).

**Bibliografia**


Bergonzini R., Canossi G. C., Di Fabio D., Viviani G., Betti A., Romagnoli R., *Radiol. Med.*, 1981, **67** (Suppl. 1), 149-158.
Cammisa M., XXIX Congresso Nazionale SIRMN, *Radiol. Med.*, 1981, **1**, 155-158.
Felson B., *Chest Roentgenology*, 1973, Saunders, Philadelphia.
Fraser R. G., Paré J. A. P., *Diagnosi delle malattie toraciche*, 1978, Casa Editrice Ambrosiana, Milano.
Heitzman R. E., *The Mediastinum*, 1977, Mosby, Saint Luis.
Pedicelli G., *Appunti e schemi di semeiotica radiologica del torace*, 1981, Medical Book, Palermo.
Rémy J., *J. Radiol.*, 1976, **57**, 907-911.
Vlasbloem H., Scultze Kool L. J., *Radiology*, 1988, **169**, 29-34.
Wieder S., Adams P., *AJR*, 1981, **137**, 695-698.
Woodring J. H., Daniel T. L., *Medical Radiography Photography*, 1986, **62**, 1-49.


GIOVACCHINO PEDICELLI E PEPPINO SAPIA

## DIAGNOSTICA MEDIANTE TC, RMN ED ECOGRAFIA

### Introduzione

La diagnostica del m., un tempo limitata alle sole tecniche della radiologia tradizionale, è diventata molto sofisticata e più precisa grazie all'utilizzo sempre maggiore della tomografia computerizzata (TC) e, attualmente, anche della risonanza magnetica nucleare (RMN).

L'approccio diagnostico alla patologia del m. deve prevedere, in prima istanza, l'esame radiografico con tecnica ad alto kilovoltaggio eventualmente completato da esame stratigrafico (v. sopra, col. 4903), in seconda istanza l'esame tomodensitometrico eventualmente seguito da biopsia TC-guidata e, in casi selezionati con precisi requisiti diagnostici, l'esame con RMN.

L'ecografia svolge un ruolo limitato nello studio della patologia mediastinica. Non ancora di routine, anche se di risultati promettenti, l'ecografia transluminale per la valutazione delle patologie esofagee e cardiaca.

### TC e RMN

Negli ultimi 10 anni, per quanto riguarda la TC, non vi sono state sostanziali modificazioni nella tecnologia delle apparecchiature e nella tecnica di studio e tipizzazione delle lesioni mediastiniche.

Le uniche due grosse novità emerse negli anni '80 sono rappresentate dal più comune utilizzo dell'approccio bioptico percutaneo sotto guida TC alle lesioni mediastiniche e l'introduzione di attrezzature specificamente dedicate allo studio del cuore (Imatron®).

La prima novità è legata soprattutto alla riduzione dei tempi del ciclo acquisizione-ricostruzione delle immagini, che, negli apparecchi dell'ultima generazione, è di circa 6-7 sec. In questo modo risulta velocizzata la tecnica di guida dell'ago, per via percutanea, verso l'obiettivo mediastinico (fig. 15).

L'avvento della guida TC alla biopsia mediastinica, in alternativa a quella fluoroscopica, ha inoltre ampliato le indicazioni di questo tipo di procedura e ha determinato un aumento del numero dei pazienti suscettibili di biopsia sia perché si evidenziano lesioni non visibili all'esame standard sia perché sono aggredibili con sicurezza lesioni di difficile approccio fluoroscopico. L'accuratezza di questa tecnica

Fig. 15. Agobiopsia TC-guidata a livello del m. posteriore su recidiva paraortica in paziente con linfoma di Hodgkin.

varia dall'83 al 91% con una specificità variabile dal 97 al 100% (Van Sonnenberg *et al.*, 1988; Rossi *et al.*, 1989; Doons *et al.*, 1984).

Grazie a queste metodiche di diagnostica e di interventistica, la mediastinoscopia con biopsia ha perso gran parte del significato assunto in passato nell'ambito delle patologie espansive mediastiniche. Tale procedura, peraltro marcatamente invasiva e inattuabile senza anestesia generale, in mani esperte può oggi risultare utile quando sia assolutamente necessaria una tipizzazione tessutale di linfonodi che alla TC risultano dimensionalmente nei limiti della norma.

Per quanto riguarda l'«*imaging* del cuore» la novità degli anni '80 è rappresentata dalla comparsa dell'Imatron®, un sistema TC ultraveloce. Questa attrezzatura permette tempi di esposizione di circa 50 msec che eliminano virtualmente tutti gli artefatti da movimento e rendono tale apparecchiatura lo *scanner* ideale per lo studio del cuore. Con l'Imatron® è possibile ottenere immagini sia in *cine-mode*, per lo studio dinamico globale e distrettuale della funzionalità miocardica, che in *trigger-mode*, usato per specifiche analisi di flusso mediante scansioni eseguite in una specifica fase (*ECG-Triggered*) del ciclo cardiaco, che in *volume-mode*, il quale per mezzo di 8 scansioni dello spessore di 1 cm a livello della regione d'interesse (ad es. il ventricolo sinistro) permette la stima del volume ventricolare e della massa del miocardio (Lipton *et al.*, 1984).

Occorre però dire che gli studi sulle possibilità dell'Imatron® si sono ridotti di significato a causa dell'esplosivo sviluppo dell'ecocardiografia (v.*) e della risonanza magnetica nucleare (RMN).

L'esame con RMN infatti è ormai uscito dalla fase sperimentale per scopi scientifici e oggi, grazie al diffondersi delle apparecchiature, è divenuto un esame complementare alla TC nella diagnostica della patologia del m. e l'ha praticamente sostituita nello studio del cuore.

Ricordiamo comunque che la metodica di prima scelta nello studio della patologia cardiaca rimane sempre l'ecocardiografia (v.*), in special modo se completata dall'esame Doppler e/o *color*-Doppler (v. sotto).





Digitized by Google

Lo studio del m. con TC non può prescindere dall'uso di mezzo di contrasto (m. di c.) iodato somministrato per via endovenosa. La tecnica più utilizzata è quella dell'angio-TC in cui ciascuna scansione viene preceduta dall'iniezione di 20 ml di m. di c. in bolo a 4-5 ml/sec con un ritardo tra iniezione e scansione di circa 8 sec. In tal modo i grossi vasi risultano fortemente iperdensi e facilmente distinguibili dalle restanti strutture ilo-mediastiniche. (Per le immagini TC del m. si rinvia alle figg. 26-34 della voce MEDIASTINO [IX, 580-590]).

L'esame con RMN possiede invece un'alta capacità di risoluzione di contrasto intrinseca che consente facilmente, e senza l'uso di mezzi di contrasto, di differenziare i vari tessuti, sia sani che patologici, dai vasi fino alle grosse diramazioni bronchiali.

Nelle sequenze *Spin Echo*, più frequentemente utilizzate per la formazione delle immagini, si applicano ai nuclei di H impulsi di radiofrequenza (RF) opportunamente tarati e gradienti di campo magnetico tali da produrre un segnale ottimale da parte del tessuto in esame. Ne consegue, in generale, che i nuclei in movimento, come quelli del sangue, risentiranno in maniera incompleta delle sequenze e quindi produrranno un segnale piccolo o nullo.

Inoltre la multiplanarietà dell'esame con RMN consente una valutazione ottimale dei diversi rapporti anatomici fra tessuto patologico e tessuto sano. Rispetto alla TC, per contro, la RMN ha una minor risoluzione spaziale e un maggior tempo d'esame.

La minor risoluzione spaziale non consente di evidenziare piccoli linfonodi o le caratteristiche del parenchima polmonare come è attualmente possibile con la TC ad alta risoluzione.

Il maggior tempo di esame è legato alle molteplici acquisizioni e all'uso della sincronizzazione elettrocardiografica (*gating*) necessarie per la riduzione degli artefatti da movimento e per la perfetta visualizzazione del cuore e dei grandi vasi.

La RMN, per la multiplanarietà dell'*imaging* e per il contrasto intrinseco, è preferibile alla TC nella valutazione delle masse adese alla parete cardiaca e dei grandi vasi, nello studio delle lesioni che interessano la finestra aortopolmonare, nello studio del cuore (*cine*-RMN) e nella patologia congenita malformativa o acquisita dei grossi vasi (atresie polmonari, ipoplasie, stenosi, fistole aortopolmonari, dissecazioni aortiche) (fig. 16).

Fig. 16. RMN. Difetto del setto interatriale con ipertensione polmonare. Immagine assiale pesata in $T_1$ con sincronizzazione cardiaca. È presente un ampio difetto del setto interatriale (*frecce*) con ispessimento concentrico delle pareti del ventricolo destro (RV) e dilatazione dei rami dell'arteria polmonare (*asterischi*) segno di ipertensione polmonare. (RA = atrio destro; LA = atrio sinistro, A = aorta toracica).

Fig. 17. RMN. Linfoma di Hodgkin. Scansione assiale a livello dell'arco aortico, pesata in $T_1$, con sincronizzazione cardiaca. In questa sequenza il tessuto adiposo del m. dovrebbe avere una intensità di segnale simile a quella del grasso sottocutaneo. Le masse linfomatose (T) occupano lo spazio mediastinico compreso tra la vena cava superiore (V), la carena (C) e l'aorta (A).

La tecnica di studio del m. è in continua evoluzione e variabile da centro a centro sia per le diverse caratteristiche delle attrezzature esistenti, sia per la continua messa a punto di nuove sequenze. È preferibile l'utilizzo delle sequenze pesate in $T_1$ in quanto permettono un'ottimale differenziazione tra il grasso mediastinico ($T_1$ breve), che appare ad elevata intensità di segnale, e le «masse intramediastiniche» che, avendo generalmente $T_1$ più lungo, si presentano con intensità di segnale intermedio-bassa (fig. 17).

Si preferiscono usualmente i piani di scansione assiali, mentre le immagini sui piani coronali sono utili per la valutazione dei rapporti di una grossa massa con il cuore e il pericardio e soprattutto per la valutazione della patologia della finestra aortopolmonare.

Le principali indicazioni delle RMN e della TC nella patologia del m. sono sovrapponibili: 1) definizione di estensione e stadiazione di un tumore; 2) determinazione di una massa o di un'immagine anomala rilevata con altre indagini; 3) ricerca della causa di sintomi specifici come, ad es., il dolore toracico non anginoso.

Per quanto riguarda le linfadenopatie, sia per la RMN che per la TC, vale il criterio dimensionale per distinguere linfonodi normali da quelli patologici.

La RMN permette di evidenziare linfonodi ilari, inizialmente non documentati alla TC, utilizzando correttamente alcune sequenze con *gating* cardiaco. Lo studio dei tempi di rilassamento sia *in vitro* che *in vivo* forse permetterà in un futuro non troppo lontano di distinguere linfonodi con infiammazione acuta da linfonodi di malattie granulomatose e linfomatose e da linfonodi metastatici.

Per quanto riguarda gli studi di masse mediastiniche TC e RMN offrono parimenti indubbi vantaggi rispetto alle metodiche convenzionali sia in termini di sensibilità che di





Digitized by Google

Fig. 18. RMN. Carcinoma broncogeno, immagine assiale pesata in $T_1$ (*Spin Echo* [SE[ 500/30). A livello del lobo superiore del polmone sinistro è evidente una massa tumorale a media intensità di segnale (T) che invade il tessuto adiposo del m. superiore e ingloba l'arteria succlavia di sinistra.

Fig. 19. RMN. Aneurisma dissecante dell'aorta toracica. Immagine assiale pesata in $T_1$, con sincronizzazione cardiaca. Il lume falso (*asterisco*) presenta elevata intensità di segnale a causa della bassa velocità di flusso. Si noti il lembo intimale che divide il lume vero da quello falso.

specificità. Agevole è la determinazione della sede e delle dimensioni di qualsiasi processo espansivo, nonché delle sue caratteristiche strutturali e delle componenti anatomiche eventualmente compromesse (fig. 18).

Higgings e Hricak (1989) hanno dimostrato, in uno studio con la TC, spostamento e infiltrazione delle strutture vascolari solamente in 2/3 dei pazienti in cui erano state dimostrate con RMN. Gli stessi AA., nel valutare l'attendibilità del tempo di rilassamento in $T_1$ e $T_2$ con RMN, hanno distinto lesioni benigne da lesioni maligne o infiammatorie croniche, e hanno concluso evidenziando una mancanza di specificità assoluta della RMN in tal senso.

La fibrosi mediastinica è facilmente documentabile sia con la TC, in grado di dimostrare i segni diretti (calcificazioni) che con la RMN, più adatta a rilevarne le complicanze (occlusioni vasali, ipointensità di segnale nei segmenti polmonari drenati da vasi venosi trombizzati).

I tre segni di invasione mediastinica ad opera di una neoplasia esofagea, rilevabili sia con TC che con RMN, sono: 1) estensione del tumore nel grasso periesofageo; 2) massa a contatto con più di 90 gradi di circonferenza aortica con perdita del piano di clivaggio adiposo; 3) perdita della convessità esterna della trachea o della carena.

Quint *et al.* (1985), in uno studio a confronto, concludono che sia la TC che la RMN hanno una bassa accuratezza nella stadiazione del carcinoma esofageo per l'incapacità di evidenziare l'invasione del tumore attraverso i piani muscolari nel grasso periesofageo.

Lo studio del cuore e dei grossi vasi con RMN è diventato uno dei più interessanti campi di sviluppo e ricerca di questa metodica. Ad oggi il rapporto costo/beneficio non rende competitiva la RMN rispetto all'ecocardiografia, ma è facile prevedere nei prossimi anni una sempre maggiore diffusione della tomografia a RMN nella valutazione del cuore per quanto riguarda lo studio delle masse intra- e paracardiache, per la valutazione della patologia ischemica e della funzionalità cardiaca (*cine-RMN*).

Un cenno particolare merita la patologia pericardica, con particolare riferimento allo studio dei piccoli versamenti liquidi, non solo nei due recessi ma soprattutto nei due seni (obliquo e trasverso), talvolta difficilmente diagnosticabili con l'ecocardiografia.

I vantaggi che la RMN dimostra nello studio del cuore sono legati ai seguenti fattori: *a*) contrasto naturale fra sangue (segnale nullo; nero) e strutture del cuore (medio/bassa intensità di segnale), e fra queste ed il grasso paracardiaco (alta intensità di segnale); *b*) assenza di radiazioni ionizzanti e di iniezioni di m. di c.; c) *cine-RMN* che permette la valutazione della funzionalità cardiaca dal punto di vista emodinamico. Quest'ultima rappresenta una delle più interessanti innovazioni della tecnica con RMN: può essere eseguita ottenendo una serie di immagini su di uno stesso piano in differenti fasi o su piani differenti nella medesima fase del ciclo. Le immagini così acquisite possono essere visualizzate in successione per ottenere un'immagine dinamica del cuore.

Molto utilizzata per la *cine-RMN* è la tecnica del *fast imaging* che, utilizzando valori di TR, TE e *flip angle* molto bassi, rende iperintenso il sangue in movimento non turbolento e con direzione omologa al *phase encoding*, mentre i flussi retrogradi e turbolenti appaiono ipointensi o, più precisamente, in forma di *signal-void* (assenza di segnale) (fig. 19). Questa tecnica risulta molto utile nella valutazione della continenza delle valvole cardiache e della presenza di *shunt*.

**Ecografia**

L'utilità e la validità dell'ecografia nella diagnostica cardiologica sono state ampiamente dimostrate in oltre vent'anni di esperienza clinica (v. ECOCARDIOGRAFIA*).

Ridotto appare a tutt'oggi il ruolo dell'ecografia nello studio della patologia toracica non cardiaca e mediastinica in particolare. Questo è dovuto soprattutto alla limitata accessibilità ultrasonografica del m. che è circondato ante-





Digitized by Google

riormente da strutture ossee e lateralmente da tessuto polmonare contenente aria.

Utilizzando un approccio anteriore, soltanto l'aorta ascendente ed il cuore sono utilizzabili come finestre acustiche al m. L'approccio craniale a livello della fossa giugulare, descritto da Goldberg nel 1971, presenta scarsa applicabilità. L'approccio sovrasternale e quello parasternale possono essere considerati sufficientemente significativi.

La via soprasternale consente una discreta definizione anatomica del m. superiore, soprattutto della componente vascolare. Questo ne permette l'utilizzo in caso di lesioni espansive perivascolari. L'approccio soprasternale non permette un'accurata valutazione degli spazi retrosternali subcarinali: per uno studio più accurato è necessario ricorrere in questi casi all'approccio parasternale.

Generalmente i linfonodi mediastinici normali, peraltro facilmente visualizzabili con la TC, non sono valutabili ecograficamente, in quanto non distinguibili dal grasso mediastinico e dal tessuto connettivo che pure appaiono iperecogeni.

Al contrario linfomi maligni ed altri tumori, che sono abitualmente ipoecogeni, sono ben visualizzabili con gli ultrasuoni, proprio per il buon contrasto dato dalle strutture iperecogene circostanti.

Nella bibliografia più recente i pareri dei diversi AA. che si sono interessati della problematica sono abbastanza discordanti. Wernecke *et al.* (1989) concludono che il ruolo dell'ecografia mediastinica può al massimo essere quello di supportare le altre metodiche diagnostiche, collocandosi tra la radiografia toracica tradizionale e metodiche più sofisticate e diagnosticamente complete, quali TC e RMN.

Liu *et al.* (1988) attribuiscono invece un ruolo primario all'ecografia mediastinica se utilizzata in neonati e bambini, addirittura giungendo a proporre un ruolo primario per l'ecografia rispetto alla TC. Si può senz'altro attribuire all'ecografia un ruolo di metodica di *screening* in età pediatrica, allorquando si rilevino evidenti anomalie all'esame radiografico tradizionale. Secondario appare invece il suo ruolo nell'adulto.

Altro campo di applicazione dell'ecografia è senz'altro quello di tecnica di guida alle biopsie mirate su masse mediastiniche, in relazione alla sua semplicità e rapidità di esecuzione. La sua applicazione è ovviamente limitata ai tumori del m. anteriore ed ai tumori polmonari che infiltrino o giungano in contiguità con la parete toracica. Anche in questo campo appare ben più preponderante il ruolo della TC.

Un breve cenno merita anche l'ecografia mediastinica con approccio transesofageo, non solo nello studio della patologia cardiaca e paracardiaca (v. ECOCARDIOGRAFIA*), ma anche nella valutazione delle neoplasie esofagee (ecografia endoscopica).

Il primo utilizzo delle sonde endoesofagee è legato alla necessità, in ambito ecocardiografico, di ottenere una diagnosi accurata anche in pazienti con «finestra acustica» precordiale inadeguata. Infatti, se il trasduttore ultrasonoro viene posizionato in esofago, per la contiguità di quest'organo con l'atrio sinistro e con l'aorta e per l'assenza di strutture che interferiscono con il fascio di ultrasuoni, è possibile ottenere immagini ecocardiografiche ad alta definizione (fig. 20). Una più ampia applicazione è stata inoltre favorita dalla possibilità di ottenere non solo uno studio anatomo-funzionale, ma anche l'analisi della velocità dei flussi intracardiaci con Doppler ad onda pulsata (anche con il *color*-Doppler). Lo studio delle masse paracardiache con questo approccio è limitato attualmente a pochi studi sperimentali.

L'utilizzo dell'approccio endoscopico nello studio della

Fig. 20. Esame ecocardiografico bidimensionale con sonda endoesofagea, che documenta una grossa formazione trombotica (TR) a livello della parete posteriore dell'atrio sinistro (AS). (*Per gentile concessione della Prof.ssa G. Jacovella, Ospedale S. Camillo, Roma*).

patologia neoplastica dell'esofago deve la sua convalida agli AA. giapponesi. La possibilità di usare trasduttori ad alta frequenza (generalmente da 7,5 MHz) consente di valutare l'entità dell'interessamento parietale, ed in alcuni casi anche l'eventuale interessamento mediastinico.

I migliori risultati si ottengono quando l'endoscopio è in grado di attraversare completamente il tratto stenotico; in caso di lesioni molto superficiali l'ecografia può non essere in grado di garantire immagini significative.

Un recente lavoro di Vilgrain *et al.* (1990) riporta risultati diagnostici nel 73% dei casi totali e nell'85% dei casi in cui la stenosi neoplastica sia stata attraversata dall'ecoendoscopio. Riportano inoltre un'accurata valutazione del coinvolgimento mediastinico nel 47% dei casi. Gli stessi AA. conludono affermando che ecografia endoesofagea e TC possono essere considerate complementari, ma che, in caso di attraversamento completo della stenosi con l'ecoendoscopio si possono ottenere informazioni più complete con un esame ecografico; in caso contrario la TC risulta spesso superiore, soprattutto nell'identificazione dell'eventuale coinvolgimento mediastinico.

**Bibliografia**

Doons G., Hricak H., Crooks L. E. *et al.*, *Radiology*, 1984, **153**, 719.

Higgins C. B., Hricak H., *La Risonanza Magnetica del corpo*, 1989, Capozzi Editore, Roma.

Jacovella G., Pino P. G., Sebastiani F., *Doppler Ecocardiografia Atlante*, 1988, CIC Edizioni Internazionali, Roma.

Lipton M. J., Higgins C. B., Farmer D. *et al.*, *Radiology*, 1984, **152**, 579.

Liu P., Daneman A., Stringer D. A., *J. Can. Assoc. Radiol.*, 1988, **39**, 199.

Quint L. E., Glazer G., Oningen M. B., *Radiology*, 1985, **156**, 727.

Rossi P., Bezzi M., Santoro P. *et al.*, *L'agobiospia TC-guidata delle lesioni del mediastino*, in Squillaci S., *Diagnostica per immagini nelle neoplasie del polmone e del mediastino*, 1989, Monduzzi Editore, Bologna.

Rossi P., Hricak H., Margulis A. R., Bezzi M., *Medicina-Riv. EMI*, 1989, **9**, 109-138.

Tartarini G., Di Marco S., Baglini R., *Ecocardiografia*, 1989, **2**, **3**, 165.

Van Sonnenberg E., Casola G., Ho M. *et al.*, *Radiology*, 1988, **167**, 457.





Digitized by Google

Vilgrain V., Monpoint D., Palazzo L. *et al.*, *AJR*, 1990, **155**, 277.
Wernecke K., Peters E. P., Galnski M., *Radiology*, 1986, **159**, 405.
Wernecke K., Potter R., Peters E. P. *et al.*, *AJR*, 1988, **150**, 1021.
Wernecke K., Vassallo P., Peters E. P. *et al.*, *Radiology*, 1989, **172**, 473.

PLINIO ROSSI, PAOLO RICCI, MICHELE ROSSI E MASSIMILIANO D'ERME

## SCINTIGRAFIA

### Traccianti radioattivi

La scintigrafia permette di studiare organi e strutture del m. attraverso la distribuzione di un tracciante radioattivo che per le sue caratteristiche fisico-chimiche e biologiche si localizza nelle sedi in studio. Allo scopo vengono impiegati:

a) *traccianti cosiddetti di lesione* che sono elettivamente o maggiormente fissati dalle strutture patologiche rispetto a quelle normali circostanti; un esempio è rappresentato dal radiogallio ($^{67}$Ga) nella rivelazione di processi flogistici o discariocinetici;

b) *traccianti d'organo*, che, concentrandosi nel parenchima normale, evidenziano la lesione sotto forma di un difetto di captazione; è il caso del radioiodio ($^{131}$I o $^{123}$I) che per la sua specificità metabolica consente di individuare distopie della tiroide in sede mediastinica oltre alle sue alterazioni funzionali distrettuali;

c) *traccianti a diluizione nel compartimento ematico*, la cui distribuzione intravasale permette la rappresentazione delle cavità cardiache e dei grossi vasi (v. SCINTIGRAFIA, XIII, 2215); tipico esempio sono le $^{99m}$Tc-emazie pretrattate con pirofosfato.

### Indicazioni

Le indicazioni della scintigrafia nello studio del m. sono:

a) gozzi endotoracici;

b) masse mediastiniche solide: l'indagine consente un giudizio di attività e un giudizio di lesione;

c) studio delle opacità di origine vascolare e delle deformazioni delle cavità cardiache.

#### *Gozzi endotoracici*

La disponibilità di traccianti a specifica fissazione tiroidea, in quanto partecipi alla ormonogenesi della ghiandola, con-

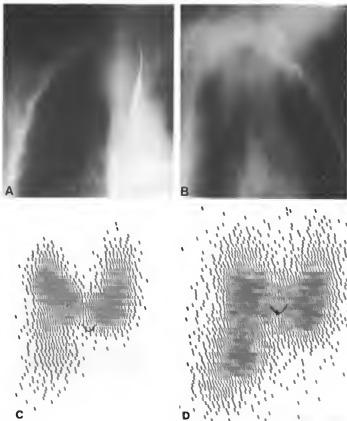



Fig. 21. Gozzo endotoracico intertracheo-esofageo. *A*) Stratigrafia secondo piani frontali; *B*) stratigrafia secondo piani sagittali: presenza di opacità di massa nel m. superiore con deviazione verso sinistra della trachea e lieve compressione sull'esofago. *C*) Scintigrafia della regione cervico-toracica con $^{131}$I in rilevazione anteriore: presenza di iodocaptazione in corrispondenza della opacità apprezzabile radiograficamente; l'area di aumentata radioconcentrazione si continua in sede cervicale con l'immagine del lobo destro della tiroide. *D*) Scintigrafia della regione cervico-toracica in rilevazione posteriore; si conferma la estensione piuttosto posteriore della porzione mediastinica del gozzo.





Digitized by Google

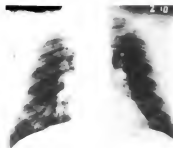



Fig. 22. Sarcoidosi. *A sinistra*: radiogramma del torace: bilateralmente, discreto ingrandimento delle immagini ilari e slargamento del m. superiore. Coesiste lieve alterazione interstiziale in sede basale destra. *A destra*: scintigrafia del torace con $^{67}$Ga: significativo aumento della radioconcentrazione in sede ilare bilateralmente, in sede paramediastinica alta a destra, ed in sede mediastinica superiore, in rapporto a poliadenopatia.

sente la diagnosi scintigrafica di massa mediastinica di origine tiroidea (fig. 21).

Dalla correlazione tra reperto radiostratigrafico e quello scintigrafico è possibile differenziare tra loro i gozzi endotoracici immersi, caratterizzati da continuità tessutale con la ghiandola in sede cervicale, e i gozzi endotoracici ectopici da trasformazione strumosa di tiroidi accessorie non connesse con la tiroide. Va precisato, comunque, che in circa il 10% dei casi il gozzo endotoracico non possiede un sufficiente grado di attività iodopessica per cui mediante le tecniche di rivelazione scintigrafica non è possibile una definita precisazione diagnostica.

Le cause di un simile comportamento possono essere la presenza di diffusa degenerazione colloido-cistica, di fenomeni di estesa precipitazione calcarea e di involuzione fibrosa ed infine la trasformazione neoplastica del tessuto.

*Masse mediastiniche solide o cistiche*

La scintigrafia con radioindicatori di lesione è in grado di differenziare processi strutturati con componente cellulare ad elevato potenziale metabolico da quelli a basso potenziale metabolico.

Il radiofarmaco più comunemente impiegato è il radiogallio ($^{67}$Ga citrato). Questa sostanza una volta introdotta in circolo, agisce biologicamente come un analogo dello ione ferrico e, legandosi alla transferrina, diffonde attraverso i pori dell'endotelio ed entra nello spazio extracellulare; quindi si lega ai recettori specifici della membrana cellulare che condizionano il passaggio all'interno delle cellule per incorporazione in vescicole endocitiche.

I fattori biologici che condizionano l'incorporazione del tracciante nei processi patologici ad elevato potenziale metabolico sono del tutto aspecifici; essi sono rappresentati da vascolarizzazione, permeabilità vasale, densità cellulare e attività proliferativa. Ne consegue che le informazioni che si possono trarre sono di utilità diagnostica solo se intese ad evidenziare un particolare aspetto funzionale legato in definitiva all'attività metabolica del processo. Questo dato se inserito nel contesto dei rilievi anatomo-radiografici di un processo massivo del m. può essere di ausilio per la caratterizzazione tessutale e pertanto per la diagnosi differenziale tra la patologia neoformativa benigna e maligna.

La scintigrafia con radiogallio consente oltre al giudizio di attività di un processo radiograficamente già evidenziato anche quello di lesione e di sua estensione. L'applicazione più comune è rappresentata dalla valutazione di interessamento ilare e mediastinico nella sarcoidosi (fig. 22) e nei linfomi.

Nello *staging* del carcinoma polmonare, il progresso delle tecniche di *imaging* (TC e RMN) ha fatto perdere di interesse alla scintigrafia con radioindicatori di lesione, a causa della sua elevata soglia di rappresentazione (2-3 cm) con conseguente riduzione dei valori di accuratezza diagnostica (85% circa). Con la tecnica SPECT è possibile peraltro

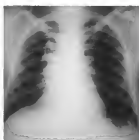
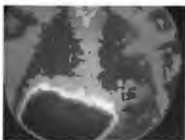
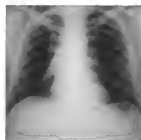
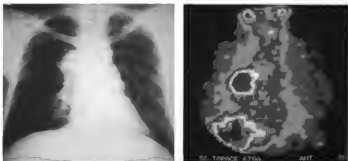



Fig. 23. Morbo di Hodgkin trattato con chemioterapia e radioterapia. *A sinistra*: radiogramma del torace eseguito a distanza di quattro mesi dal ciclo di radioterapia: evidente slargamento del m. a margini irregolari e digitati. *Al centro*: scintigrafia del torace con $^{67}$Ga: assenza di aumento significativo della radioconcentrazione nella sede di proiezione del processo addensante in sede mediastinica; il reperto rende probabile l'ipotesi della natura fibrotica del processo in esame. *A destra*: radiogramma del torace eseguito dopo due anni: quadro sostanzialmente immodificatu; si avvalora l'ipotesi della natura fibrotica del processo mediastinico.



Digitized by Google

Fig. 24. Recidiva di morbo di Hodgkin in sede mediastinica. Paziente già trattato con radioterapia e chemioterapia due anni prima con risultato di apparente guarigione. *A sinistra*: radiogramma del torace: slargamento del m. in sede alta a destra. *A destra*: scintigrafia del torace con $^{67}$Ga: aumento della radioconcentrazione in sede mediastinica superiore con estensione ilare destra.

ottenere un miglioramento della sensibilità con un incremento dell'accuratezza (circa 90%).

Un campo in cui permane ancora valida l'indicazione della scintigrafia è quello dello studio del m. dopo trattamento radioterapico o/e chemioterapico nel morbo di Hodgkin. In tali casi è frequente il dubbio clinico e radiologico se il persistere di uno slargamento del m. sia dovuto a residui attivi, a recidive o a semplice fibrosi post-terapeutica.

L'assenza di aree di aumentata radioconcentrazione nella sede del processo apprezzabile radiograficamente rende molto probabile l'ipotesi della sua evoluzione in fibrosi (fig. 23). Il persistere o la comparsa di zone di aumentata radioconcentrazione depongono invece per un residuo o per una riattivazione del processo (fig. 24).

*Opacità di origine vascolare e deformazioni delle cavità cardiache*

L'impiego delle metodiche di medicina nucleare nelle valutazioni del cuore e dei grossi vasi trova ampia applicazione per lo studio funzionale, in modo particolare nella valutazione della efficienza contrattile globale e settoriale dei ventricoli (v. CUORE*, 1972-1994).

Per lo scarso potere risolutivo l'*imaging* medico-nucleare non può certo proporsi come valida alternativa all'*imaging* radiologico (angiografia, TC e RMN) nella diagnosi delle alterazioni del m. di origine cardiovascolare; tuttavia le prerogative di non invasività, di ripetibilità, delle indagini angiocardioscintigrafiche possono in taluni casi consentire di trarre utili informazioni anche di tipo morfologico.

Nella fattispecie alcune alterazioni del profilo dell'ombra cardiovasale possono essere correttamente identificate nel corso di una angiocardioscintigrafia eseguita per ottenere informazioni sul grado di efficienza della contrattilità della parete o sulla modalità di riempimento e svuotamento delle cavità cardiache e sulla progressione del contenuto ematico. È il caso delle deformazioni dovute ad aneurisma dei ventricoli, e delle dilatazioni aneurismatiche dei vasi polmonari o dell'aorta (figg. 25 e 26).

A tal fine si impiega la tecnica di «primo passaggio» che consiste nella visualizzazione sequenziale del transito del bolo radioattivo (radiotecnezio $^{99m}$Tc) attraverso le strutture vasali e cardiache (sezioni di destra e di sinistra) dopo introduzione per via e. v. Sommando i vari intervalli di acquisizione (20-24 immagini/sec) per intervalli più lunghi, 1,5-2 sec, si ottengono sequenze di immagini che delimitano con sufficiente definizione la vena cava superiore, l'atrio di destra, il ventricolo di destra, il sistema vascolare polmonare (tronco e arterie polmonari principali), l'atrio e il ventricolo di sinistra, l'aorta ascendente, l'arco dell'aorta.

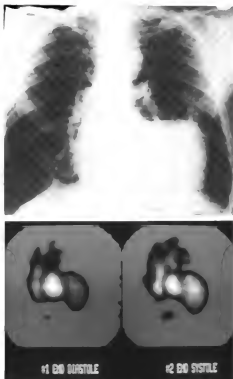



Fig. 25. Aneurisma postinfartuale del ventricolo di sinistra. *In alto*: teleradiogramma del torace: deformazione del profilo sinistro della «silhouette cardiaca» con quadro di cuore cosiddetto «a scarpa». *In basso*: angioscintigrafia all'equilibrio in telediastole ed in telesistole; proiezione OAS 45: la cavità ventricolare appare bicamerale con una porzione prossimale che segue seppur rallentata la cinetica normale mentre la porzione distale appare in contrasto di fase. La scintigrafia permette di interpretare l'alterazione del m. come dovuta a modificazione morfo-volumetrica del cuore.





Digitized by Google

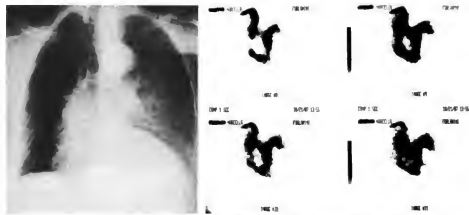



Fig. 26. Dilatazione dell'arteria polmonare e dei suoi rami principali, in soggetto con atelettasia del lobo inferiore di destra. *A sinistra*: radiogramma del torace: opacità da atelettasia del lobo inferiore di destra; ingrandimento delle strutture ilari, soprattutto a sinistra. *A destra*: angiocardioscintigrafia di primo transito: nelle sequenze intermedie si dimostra una dilatazione del tronco della polmonare e dei suoi rami, in particolare di quello di sinistra.

È pertanto possibile valutare, sia pure con discreta approssimazione, la funzione e le dimensioni delle cavità cardiache e dei grossi vasi, le modalità e i tempi di progressione del bolo radioattivo lungo la circolazione centrale.

Un'altra tecnica che trova applicazione nello studio dei ventricoli è quella cosiddetta «all'equilibrio»: essa consiste nella rappresentazione del *pool* ematico intracardiaco dopo che un radioindicatore non diffusibile si sia distribuito in maniera omogenea nel *pool* vascolare dell'intero organismo. A tale scopo viene comunemente impiegato come tracciante il radiotecnezio ($^{99m}$Tc) che si lega ai globuli rossi del paziente dopo che questi sono resi recettivi al legame tramite iniezione preventiva di pirofosfato.

A differenza della tecnica del «primo passaggio», con questa tecnica il tracciante radioattivo è contemporaneamente presente in tutte le cavità cardiache, la identificazione delle quali è possibile, per i noti problemi di interferenza proiettiva, solo nelle proiezioni OAS soprattutto nei riguardi dei ventricoli.

La registrazione di acquisizione guidata suddividendo, tramite un sincronizzatore elettrocardiografico, il ciclo in frazioni temporali (24 o più) e per molteplici cicli successivi (400-600) consente, ricorrendo alla tecnica incrementale, di ottenere un ciclo cardiaco rappresentativo.

La visualizzazione con tecnica *cine* del ciclo rappresentativo o delle sole telediastole e telesistole permetterà nel caso di aneurismi del ventricolo di valutarne le dimensioni e le alterazioni della cinetica parietale con le modificazioni di fase.

**Bibliografia**

Centi Colella A., *Manuale di Medicina Nucleare*. 1988, EUS. Roma.
Fogelman I., Masey M., *Atlas of Clinical Nuclear Medicine*. 1988, Deutscher Arzte-Verlag. Koln.
Freeman L. M., *Freeman and Johnson's Clinical Radionuclide Imaging*. 1988, Saunders, Philadelphia.
Galli G., Mendolesi U., Salvatore M., *La Medicina Nucleare nella Pratica Clinica*. 1988, Idelson, Napoli.
Pigorini F., Pau F., *Min. Pneum.*, 1983, **22**, 191-200.

FRANCESCO PIGORINI

## MEDIASTINOSCOPIA [v. vol. IX, col. 666]

### La mediastinoscopia in età pediatrica

*Indicazioni*

Le tumefazioni mediastiniche del bambino, che in 1/3 dei casi sono asintomatiche e di riscontro occasionale, costituiscono un serio problema diagnostico e terapeutico. Ciò è dovuto sia alla elevata incidenza in età pediatrica di masse con caratteri istologici di malignità, sia alla presenza di lesioni che, in virtù del loro volume e della peculiare sede topografica, sono responsabili di una sintomatologia da compressione nerveo-bronco-vascolare. La mediastinoscopia trova un impiego preciso nell'esplorazione del mediastino antero-superiore ed in parte di quello medio anche nel piccolo paziente. Tuttavia diversamente da quanto accade nell'adulto, la più rapida crescita tumorale e il minor volume mediastinico del bambino spesso non consentono una localizzazione precisa della massa in uno dei diversi compartimenti del mediastinico ed è talora possibile effettuare una biopsia per via mediastinoscopica anche di masse anteriorizzatesi, ma a partenza da sedi mediastiniche normalmente non esplorabili con questa tecnica (ad es. il mediastino posteriore). Inoltre, l'impegno dello stretto superiore del torace da parte di tumefazioni del mediastino anteriore è talmente frequente nel bambino, che le manovre mediastinoscopiche sono più semplici, rapide e meno indaginose che nell'adulto. Se il quesito diagnostico comprende una lesione del mediastino anteriore le patologie della loggia timica (cisti, iperplasie, timomi), i linfomi, i teratomi ed i tumori linfangiomatosi sono le lesioni più frequenti, alle quali più raramente si affiancano i desmoidi, alcuni tumori mesenchimali o misti (lipomi, fibrolipomi, lipotimomi) e le neoplasie germinali ad elevata malignità (soprattutto disgerminomi e teratocarcinomi).

Diversamente, il mediastino medio nel bambino è più spesso sede di flogosi linfonodali, di linfomi, di localizzazioni isolate di leucosi acute, di istiocitosi X, di sarcomi o



Digitized by Google

TAB. I. TUMEFAZIONI DEL MEDIASTINO IN ETÀ PEDIATRICA

| Autore | | Periodo | Casi | Età (mesi) | MA | MM | MP | B | M |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Haller *et al.* | '69 | 1933-68 | 80 | 0-19 | 21 | 18 | 41 | 44 | 36 |
| Grosfeld e Weinburger | '71 | 1955-69 | 62 | 0-18 | 16 | 7 | 39 | 15 | 47 |
| Whittaker e Lynn | '73 | 1935-68 | 105 | 0-16 | 40 | 25 | 40 | 55 | 50 |
| Pokorny e Sherman | '74 | 1954-72 | 109 | 0-16 | 22 | 45 | 42 | 50 | 59 |
| King e Telander | '82 | 1950-80 | 188 | 0-19 | 84 | 52 | 52 | 52 | 136 |
| Ricci | '86 | 1960-86 | 91 | 0-19 | 51 | 17 | 23 | 57 | 34 |
| Totale | | | 635 | | 234 | 164 | 237 | 273 | 362 |
| % | | | 100% | | 36,9% | 25,8% | 37,3% | 43% | 57% |

MA = mediastino anteriore; MM = mediastino medio; MP = mediastino posteriore; B = tumefazioni benigne; M = tumefazioni maligne

rabdomiosarcomi. Nel complesso, queste patologie rappresentano oltre il 60% delle tumefazioni dell'intero mediastino in età pediatrica (tab. I), e la m. risulta particolarmente utile nella diagnosi e nella stadiazione di tumori del timo, linfomi e sarcomi. Bisogna inoltre ricordare che nei bambini affetti da tumore mediastinico è particolarmente utile ottenere una diagnosi istologica mediante una via d'accesso chirurgico limitata, considerando che si tratta sempre di pazienti delicati, talora affetti da una sindrome cavale superiore latente o conclamata, e in cui la diagnosi di linfoma o sarcoma consiglia un successivo approccio terapeutico non chirurgico, almeno in una fase iniziale. In questi casi, quindi, come metodica diagnostica, la m. consente di evitare una inutile quanto dannosa toracotomia.

Anche se la presenza di una massa del mediastino anteriore o del mediastino medio rappresenta la prima indicazione ad una m. in età pediatrica, le localizzazioni isolate di malattie sistemiche, il sospetto di metastasi linfonodali e i versamenti pleurici recidivanti ad etiologia sconosciuta costituiscono una ulteriore seppure più rara indicazione.

*Strumentario e tecniche*

Nonostante le indicazioni alla m. siano ridotte ed in parte differenti rispetto all'adulto (vista la minore incidenza in età pediatrica di alcune patologie quali il carcinoma polmonare e la sarcoidosi), la tecnica dell'esame endoscopico è sovrapponibile nelle diverse età della vita. Lo strumentario comprende usualmente due mediastinoscopi, un aspiratore rigido di 2 mm di diametro, pinze bioptiche a diverso morso e aghi per citoaspirazione o agobiopsia.

Il mediastinoscopio ha la forma di un laringoscopio a lama retta, di lunghezza variabile (8-12 cm nel bambino, 10-18 cm nell'adulto), provvisto di sorgente luminosa, a sezione circolare che va rastremandosi verso l'estremo distale tagliato a becco di flauto. Sul lato destro, la circonferenza dello strumento è interrotta da una scanalatura attraverso cui vengono di volta in volta introdotti pinze, tamponcini per dissezione, farmaci, anticoagulanti.

Previa anestesia generale, il mediastino del bambino può essere indagato con la classica m. assiale descritta da Carlens nel 1959 (v. MEDIASTINOSCOPIA [IX, 666)], oppure con una m. anteriore particolarmente indicata per l'esplorazione della patologia timica: in questi casi lo strumento, introdotto attraverso una incisione trasversa di pochi centimetri condotta un dito al di sopra del giugulo, dopo avere oltrepassato il manubrio sternale viene fatto basculare anteriormente al davanti della regione vascolare. Questa manovra consente la m. della regione retrosternale, prevascolare, prepericardica e quindi della loggia timica propriamente detta. Tuttavia, il mediastinoscopio, previa incisione parasternale, più spesso condotta a livello del II spazio intercostale, può essere introdotto anche per via anterolaterale (destra o sinistra): in questi casi è consentito ottenere dei campioni bioptici da masse mediastiniche a prevalente estrinsecazione anterolaterale. La m. consente quindi l'esplorazione di ampie aree del mediastino e la biopsia e/o una agoaspirazione profonda sotto diretto controllo visivo.

Il colorito e la consistenza della lesione (soffice: angiomi, emolinfangiomi; gelatinosa: disgerminomi, linfomi non-Hodgkin; lardacea: linfomi Hodgkin; tesoelastica: cisti o teratomi cistici), la presenza o l'assenza di pulsatilità, l'infiltrazione delle strutture contigue, sono tutte caratteristiche che vengono indagate e che possono indirizzare verso una prima diagnosi, successivamente definita dall'esame istologico.

*Complicanze*

La mortalità è estremamente ridotta; gli incidenti gravi possono derivare dalla lacerazione di tronchi arterovenosi (in particolare del tronco venoso anonimo di sinistra) tanto più frequenti in presenza di anomalie anatomiche vascolari, quali la presenza di un'arteria innominata in posizione alta o di una arteria tiroidea ima. Sono state descritte lesioni dell'asse azygos-cavale ed emorragie gravi derivanti dalla rottura di peduncoli vascolari linfonodali. Rarissime ma temibili la rottura della trachea o dell'esofago e la mediastinite. Possibili l'embolia gassosa da aspirazione di aria nelle vene toraciche, a pressione negativa, il pneumotorace e l'emotorace.

Le complicanze minori comprendono le emorragie di lieve entità, risolte con compressione, elettrocauterizzazione o con emostatici locali, la temporanea paresi delle corde vocali, per lesioni del ricorrente, specie di sinistra, l'elevazione di un emidiaframma, un'ipotensione transitoria, le aritmie dell'immediato postoperatorio.

**Bibliografia**


Carlens E., *Dis. Chest*, 1959, **36**, 343.
Di Preta F., *Arch. Ital. Anat. Embriol.*, 1979, **84**, 245.
Dyon J. F., Sarrazin R., *Chir. Pediatr.*, 1978, **19**, 61.
Grosfeld J. R., Weinburger M., *Ann. Thorac. Surg.*, 1971, **12**, 179.
Haller J. A. jr., Mazur D. O., Morgan W. W. jr., *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 1969, **58**, 385.
Hentz J., Wihlm J. M., Irrmann C., Dupeyron J. P., *La mediastinoscopie, technique et complications*, 1984, **60**, 103.
King R. M., Telander R. L., *J. Pediatr. Surg.*, 1982, **17**, 512.
Pokorny W. J., Sherman J. O., *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 1974, **68**, 869.
Ricci C., Santoro E., *Mal. Torac. Cardiovasc.*, 1965, **1**, 97.
Ricci C., dati non pubblicati, in *Tumori e cisti del mediastino in età pediatrica* (Tesi di G. Ciprandi, Specializz. Chir. Toracica, Università di Roma «La Sapienza», 1986/87).
Ruge U., Koch H., *Mediastinoscopy in infancy and childhood*, in *Mediastinoscopy*, Odense University Press, 1982, **135**, 171.
Tischer W., Willnow U., *Prog. Pediatr. Surg.*, 1975, **8**, 71.
Whittaker L. D., Lynn H. B., *Surg. Clin. North Am.*, 1973, **53**, 893.


CAMILLO BOGLINO, ALESSANDRO INSERRA E GUIDO CIPRANDI

## MEDIATORI CHIMICI [v. vol. IX; col. 668]

SOMMARIO







Digitized by Google

(col. 4937). - **Recettori dei mediatori chimici** (col. 4938). - **Mediatori chimici in patologia** (col. 4938). - **Farmaci a mediatori chimici** (col. 4939).

**Principi della trasmissione chimica dieci anni dopo**

L'accezione del termine *mediatore chimico* si è allargata e s'intendono ora in questo modo tutte le sostanze che rilasciate da una cellula trasmettono un segnale ad altre cellule. Si può pertanto parlare di m. c. della trasmissione nervosa, dell'infiammazione, dello sviluppo e così pure della plasticità cellulare. Tuttavia in questa voce, come in quella del volume IX, saranno trattati unicamente i m. c. della trasmissione nervosa detti anche neuromediatori o neurotrasmettitori.

Questi sono liberati dalle terminazioni neuronali dall'arrivo degli impulsi nervosi cui segue un aumento transitorio della concentrazione di calcio citosolico che attiva le proteine contrattili responsabili dell'estrusione. La liberazione di m. c. è pertanto dipendente dall'attività nervosa propagata, dalla frequenza degli impulsi e dal calcio. Queste caratteristiche della trasmissione nervosa, identificate fra il 1950 e gli anni '70, sono state confermate dai recenti studi sulla liberazione dei m. c. condotti con la tecnica della *microdialisi intracerebrale* che permette di identificare e misurare le sostanze che si liberano nello spazio interstiziale in specifiche regioni cerebrali; già usata nell'animale da laboratorio essa è stata impiegata di recente anche nell'uomo nel corso d'interventi chirurgici.

Una volta liberati, i m. c. si legano a siti specifici pre- o postsinaptici sulla superficie dei neuroni o degli effettori periferici (placca neuromuscolare, cellule ghiandolari, ecc.) e possono esercitare due tipi di azione. La prima è quella di trasmettere il segnale nervoso attivando, o inibendo, un secondo neurone o cellule effettrici. La seconda, che è stata meglio definita nel corso dell'ultimo decennio, è quella di modulare la propria liberazione, o quella di altri m. c., o il numero e l'affinità dei recettori.

**TAB. I. MEDIATORI CHIMICI DEL S. N. C. E/O PERIFERICO**

| | |
|---|---|
| **Amine:** | |
| acetilcolina (ACh) | noradrenalina (NA) |
| adrenalina (AD) | dopamina (DA) |
| adenosina (ADO) | istamina (Hi) |
| serotonina o 5-idrossitriptamina (5-HT) | |
| **Aminoacidi:** | |
| ac. glutammico | ac. aspartico |
| ac. aminobutirrico (GABA) | glicina |
| **Polipeptidi:** | |
| colecistochinina (CCK) | angiotensina |
| sostanza P (SP) | vasopressina |
| *vasoactive intestinal peptide* (VIP) | neurotensina |
| tireoliberina (TRH) | met-e leu-enkefaline |
| somatostatina (SOM) | beta endorfina |
| *luteinizing hormone-releasing* | dinorfina |
| *hormone* (LHRH) | bombesina |
| *melanocyte stimulating hormone* (MSH) | bradichinina |
| *adrenocorticotropic hormone* (ACTH) | neuropeptide Y (NPY) |
| galanina | atriopeptina |

**Nuovi mediatori chimici: neurotrasmettitori e neuromodulatori**

Confrontando la tab. I della voce MEDIATORI CHIMICI (IX, 671) con la tab. I attuale, si può notare che negli ultimi anni è aumentato il numero delle sostanze che sono considerate m. c. in base ai criteri anatomici, chimici, fisiologici e farmacologici descritti dettagliatamente nel vol. IX. L'attuale tab. I elenca le sostanze che sono oggi ritenute attive nella trasmissione degli impulsi nel sistema nervoso centrale e nei sistemi nervosi periferici. Dal punto di vista chimico i m. c. sono di 3 tipi: amine, aminoacidi e polipeptidi.

La suddivisione dei m. c. in *neurotrasmettitori* e *neuromodulatori* ha perso il suo significato in quanto è stato visto

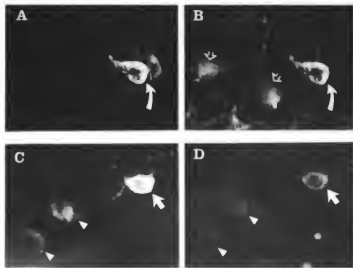



Fig. 1. Microfotografia di neuroni del nucleo peduncolopontino di ratto colorati con metodi immunoistochimici. *A*) Un neurone contenente atriopeptina, indicato dalla *freccia ricurva*. *B*) La stessa sezione di *A* colorata per la sostanza P (*frecce aperte e freccia ricurva*); la *freccia ricurva* indica lo stesso neurone di *A* che contiene anche sostanza P. *C*) Neuroni colorati per l'atriopeptina: uno è chiaramente visualizzato (*freccia*), altri due sono sfocati (*triangoli*). *D*) La stessa sezione di *C* colorata per la colinoacetiltransferasi; la *freccia* indica lo stesso neurone visto in *C*, mentre gli altri due neuroni sfocati sono indicati dai *triangoli*. (*Da Standaert D. G. et al., Brain Research, 1986*, **382**, *163*).





Digitized by Google

che tutti i m. c. possono esercitare sia un'azione di trasmissione dell'impulso nervoso attraverso lo spazio intersinaptico, sia di modulazione, a seconda della sede e del tipo di recettore sul quale agiscono. Per es., l'acetilcolina è un neurotrasmettitore a livello della giunzione neuromuscolare dove induce depolarizzazione seguita dalla contrazione muscolare, ma è anche un neuromodulatore in quanto agendo su recettori presinaptici nicotinici o muscarinici posti sulle terminazioni colinergiche (autorecettori) modula la sua liberazione facilitandola o inibendola mediante *feed-back* negativi o positivi.

V. anche: NEUROTRASMETTITORI*.

**Coesistenza di più neurotrasmettitori nello stesso neurone**

Lo sviluppo delle tecniche istochimiche e immunoistochimiche ha permesso una localizzazione sempre più precisa nei neuroni dei m. c. e di alcuni degli enzimi che li sintetizzano. Ciò ha portato all'identificazione dei m. c. di molte vie nervose e alla dimostrazione che il numero dei neuroni centrali e periferici che contiene più di un m. c. è molto maggiore di quanto non si pensasse in passato. I m. c. presenti nella stessa cellula possono essere di vario tipo e dare origine a molte forme di co-localizzazione: amine e aminoacidi (per es. GABA e 5-HT nei neuroni del rafe), due amine diverse (per es. 5-HT e adrenalina nelle cellule midollari surrenali), aminoacidi e peptidi (per es. GABA ed enkefalina nel nucleo caudato e nell'amigdala), amine e peptidi (ACh e VIP nelle fibre simpatiche postgangliari; DA e CCK nei neuroni del sistema mesolimbico di ratto e uomo), due o più peptidi (per es. CCK e VIP nel talamo).

La fig. 1 illustra la localizzazione della immunoreattività per la colinoacetiltransferasi e il peptide natriuretico atriale (atriopeptina) in alcuni neuroni dei nuclei tegmentali peduncolopontini. I risultati sperimentali fanno ritenere che il m. c. primario ha la funzione di neurotrasmettitore mentre il co-trasmettitore ne modula la liberazione a livello presinaptico o modifica il numero, l'affinità e la funzione dei recettori del m. c. primario a livello postsinaptico. Inoltre, il m. c. di natura aminica o aminoacidergica induce risposte più rapide di quelle dei polipeptidi.

**Sintesi e inattivazione dei mediatori chimici**

I meccanismi generali della sintesi e inattivazione dei m. c. sono quelli descritti 10 anni fa. Tuttavia lo sviluppo della biologia molecolare ha permesso di isolare, clonare e identificare la sequenza aminoacidica e la struttura di alcuni degli enzimi specifici coinvolti nel metabolismo dei m. c. Fra gli enzimi di cui si conosce la struttura ricordiamo la colinoacetiltransferasi che sintetizza l'acetilcolina, l'acetilcolinesterasi e la catecol-0-metiltransferasi.

Sono state approfondite le conoscenze sui meccanismi che regolano la sintesi dei m. c. di natura peptidergica. Per quasi tutti i peptidi è stato isolato il DNA complementare (c-DNA) allo RNA messaggero che codifica i precursori (pro-peptidi o pro-ormoni). Il pro-peptide è trasformato nel peptide attivo mediante distacco per opera di un'endopeptidasi che agisce in un sito marcato da due residui basici (lisina o arginina). La successiva rimozione di questi residui basici per opera di aminopeptidasi o carbossipeptidasi dà origine al peptide attivo. Per risposte di breve durata il neurone utilizza i m. c. dei depositi, mentre nel caso di stimoli prolungati, per es. dovuti all'ambiente, la sintesi dei m. c. viene regolata da modificazioni dell'espressione dei geni che codificano la sintesi degli enzimi che formano i m. c. (per es. tirosinaidrossilasi per le catecolamine) o la sintesi dei neuropeptidi. Non sono cambiate le conoscenze sui meccanismi che inattivano i m. c. di tipo aminico o aminoacidico, inattivazione che avviene, dopo la loro liberazione dalle terminazioni nervose, per opera di enzimi specifici e della ricaptazione da parte delle terminazioni stesse e di cellule gliali, nel caso degli aminoacidi.

Sono aumentate invece le conoscenze sui meccanismi di inattivazione dei m. c. di natura polipeptidica. Il principale meccanismo è la degradazione enzimatica per opera di esopeptidasi, che rimuovono singoli aminoacidi o dipeptidi dai terminali C o N, o di endopeptidasi che rompono i legami interni dei peptidi. Alcune peptidasi sembrano dotate di una certa specificità, dovuta alla conformazione del substrato. L'esempio più noto è quello dell'enkefalinasi, una dipeptidil-carbossi-peptidasi che inattiva preferenzialmente, ma non esclusivamente, le enkefaline.

**Recettori dei mediatori chimici**

Le conoscenze sui recettori dei m. c. sono aumentate molto nell'ultimo decennio sia per quanto riguarda i siti di riconoscimento che i meccanismi di trasduzione dei segnali portati dai m. c. All'aumento delle conoscenze in questo campo hanno contribuito le tecniche di *receptor binding* (legame recettoriale), la sintesi di nuovi ligandi specifici e la biologia molecolare. Mediante l'impiego di ligandi specifici marcati è stato possibile definire numero, affinità, distribuzione dei recettori e definirne numerosi sottotipi. La biologia molecolare ha permesso d'isolare l'RNA messaggero e definire la sequenza aminoacidica e la struttura di numerosi recettori e di clonarli. Sono stati isolati e clonati i recettori nicotinici e muscarinici per l'ACh, i recettori per la 5-HT, i recettori adrenergici, quelli per il GABA e per alcuni polipeptidi (tachichinine).

Ha mantenuto la sua validità la classificazione in recettori ionotropi e metabotropi a seconda del meccanismo mediante il quale l'attivazione del recettore induce la catena di eventi biofisici o biochimici che portano alla risposta cellulare. È stato scoperto da Berridge che oltre al ben noto sistema della adenilciclasi-adenosinmonofosfato ciclico (cAMP), i m. c. possono attivare anche una fosfolipasi che forma due secondi messaggeri, l'inositoltrifosfato (IP3) e il diacilglicerolo (DAG) per idrolisi del fosfatidilinositolo bifosfato. Inoltre è stato dimostrato che, nella maggior parte dei casi, l'accoppiamento fra le modificazioni steriche indotte dal legame fra m. c. e recettore e il sistema effettore (canale ionico, adenilciclasi, fosfolipasi) è dovuto all'attivazione di una proteina G, posta sulla superficie interna della membrana cellulare, che lega una molecola di GTP (guanosintrifosfato).

**Mediatori chimici in patologia**

Alterazioni della funzione dei m. c. sono il meccanismo patogenetico di molte malattie del sistema nervoso centrale e periferico. Le alterazioni possono essere causate da un difetto nella sintesi e liberazione di uno o più m. c., in una o più regioni cerebrali, causato dalla degenerazione più o meno selettiva di gruppi di neuroni, o da modificazioni nel numero, affinità e funzione dei recettori. Le ricerche dell'ultimo decennio hanno portato numerose conferme dirette e indirette a quanto era stato riassunto nella tab. II della voce MEDIATORI CHIMICI (IX, 679).

Le alterazioni del sistema dopaminergico nella schizofrenia non hanno ancora trovato una spiegazione, ma la ipotesi di un aumento o di uno squilibrio nel numero dei recettori sembra la più probabile. Ugualmente l'esistenza di alterazioni dei sistemi serotoninergico e noradrenergico nella depressione è confermata ma non è definito il tipo di questa alterazione. Nella demenza senile di Alzheimer è stato visto che oltre a una diminuzione di ACh vi è anche





Digitized by Google

quella della Na, della 5-HT e di diversi polipeptidi. Una ipofunzione della trasmissione colinergica centrale è stata dimostrata anche nell'invecchiamento non patologico e potrebbe spiegare una parte dei difetti cognitivi comuni nell'anziano.

Vi sono dimostrazioni che un difetto dei meccanismi GABAergici o un eccesso di aminoacidi eccitatori, quali glutammato e aspartato, siano coinvolti nella patogenesi dell'epilessia. Inoltre, alterazioni dei sistemi che liberano GABA e 5-HT sembrano una causa dell'ansia; si va precisando sempre più il ruolo di alcuni m. c. quali ACh, glutammato e 5-HT nell'apprendimento e memoria e delle enkefaline ed endorfine nei sistemi antinocicettivi e nella loro patologia. Le ricerche sui m. c. in patologia sono in rapida evoluzione anche grazie alla introduzione della tomografia a emissione di positroni (PET) che permette la visualizzazione di recettori e m. c. nel cervello umano.

#### Farmaci e mediatori chimici

L'importanza dei m. c. nella patogenesi di molte malattie del S.N.C. e del sistema nervoso periferico è una delle ragioni che spingono a una continua ricerca di farmaci che interferiscano con i meccanismi della trasmissione chimica. I farmaci possono essere precursori dei m. c., come la L-DOPA usata nel morbo di Parkinson, facilitatori della liberazione, come l'anfetamina, inibitori dell'inattivazione, come gli anticolinesterasici o i bloccanti della captazione, agonisti e antagonisti dei recettori.

Fra i farmaci attivi sulla trasmissione nervosa entrati nella pratica clinica nell'ultimo decennio ricorderemo il *deprenyl*, inibitore dell'inattivazione della dopamina da parte della monoaminossidasi B, usato nella terapia del morbo di Parkinson, alcuni antidepressivi quali la *fluoxetina* e l'*amineptina*, bloccanti la captazione della NA e 5-HT, numerosi agonisti e antagonisti selettivi dei recettori beta 1 e 2 per le catecolamine, impiegati in patologia cardiovascolare e respiratoria, alcuni GABAmimetici, quali la *progabide*, proposti nel trattamento dell'epilessia, alcuni antagonisti e agonisti selettivi dei recettori della 5-HT utilizzati come antiemetici o nell'emicrania.

È in fase di avanzato sviluppo la ricerca di nuovi antipsicotici attivi sui recettori D1 per la dopamina, di nuovi inibitori delle colinesterasi e di agonisti specifici per i recettori muscarinici da usare nella demenza senile di Alzheimer, di antagonisti degli aminoacidi eccitatori. Sono stati sintetizzati inibitori dell'enkefalinasi. Tuttavia, nella sperimentazione clinica non hanno dimostrato quell'azione analgesica che sarebbe dovuta risultare dal potenziamento dei meccanismi antinocicettivi mediati dalle enkefaline. Tutti questi farmaci non solo sono utili in terapia, ma permettono anche di comprendere meglio il ruolo fisiologico dei m. c. nel sistema nervoso periferico e centrale, in particolare nel comportamento e nei processi mentali superiori.

#### Bibliografia

Benveniste H., *J. Neurochem.*, 1989, **52**, 1667-1679.
Berridge M. J., *Annu. Rev. Biochem.*, 1987, **56**, 159-193.
Gilman A. G., *Annu. Rev. Biochem.*, 1987, **56**, 615-649.
Goodman R. H., *Annu. Rev. Neurosci.*, 1990, **13**, 111-127.
Goodman and Gilman's, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 1990, VIII ed., Pergamon Press, New York.
McGeer P. L., Eccles J. C., McGeer E. G., *Molecular Neurobiology of the Mammalian Brain*, 1987, Plenum, New York.
Meyerson B. A., Linderoth B., Karlsson H., Ungerstedt U., *Life Sci.*, 1990, **46**, 301-308.
*Receptor Nomenclature Supplement, Trends Pharmacol. Sci.*, Gennaio 1990.
Siegel G., Agranoff B., Albers R. W., Molinoff P., *Basic Neurochemistry*, 1989, Raven, New York.

GIANCARLO PEPEU

## MEDICINA ALTERNATIVA

F. *médecina alternativa*. - I. *alternative medicine*. - T. *alternative Medizin*. - S. *medicina alternativa*.

#### Introduzione

La medicina odierna è costituita da un imponente complesso di conoscenze teoriche e da un grandissimo numero di pratiche diagnostiche e terapeutiche. Queste conoscenze e queste pratiche sono andate e vanno continuamente estendendosi grazie alla sistematica applicazione del metodo sperimentale allo studio dei problemi medici, e costituiscono quella che viene comunemente chiamata la *medicina scientifica*.

A questa medicina, che viene comunemente insegnata nelle Università e messa in pratica negli Ospedali, si contrappongono numerosissime pratiche terapeutiche che non traggono origine dai princìpi scientifici universalmente accettati. Queste prassi hanno una base dottrinale del tutto avulsa dalle conoscenze scientifiche più consolidate, base che molto spesso trae origine da tradizioni culturali dell'estremo Oriente, molto lontane da quel pensiero razionale che ha dato origine al pensiero scientifico. Esse costituiscono, nel loro insieme, quella medicina anomala che va comunemente sotto il nome di *medicina alternativa* e che è però anche stata indicata con espressioni diverse come «medicina eretica», «medicina dolce», «medicina naturale», «medicina integrata», «medicina tradizionale», etc.

Il problema della m. a. in senso stretto è sorto in epoca relativamente recente poiché evidentemente una m. a. ha potuto sorgere soltanto dopo che si era costituita una medicina ufficiale od ortodossa alla quale essa potesse contrapporsi. Se si considera che nel mondo occidentale moderno la medicina ufficiale è rappresentata dalla medicina scientifica, appare chiaro che una m. a. ha potuto configurarsi soltanto dopo che la medicina scientifica aveva iniziato a costituirsi. Pertanto, assumendo, sia pure con l'imprecisione di ogni demarcazione storica, che la medicina scientifica abbia avuto origine nella seconda metà del XVIII sec. con l'opera di Morgagni, e che sia giunta ad una piena maturazione metodologica verso il 1865 con la pubblicazione de l'*Introduction à l'étude de la Médecine expérimentale* di Claude Bernard, si comprende come proprio in questo intervallo di tempo abbia cominciato a presentarsi il problema della m. a.

È tuttavia opportuno ricordare che fin dai tempi più antichi, accanto alla prassi medica più autorevole, riconosciuta da gran parte della società del tempo, sono sempre esistite pratiche terapeutiche anomale, esercitate da presunti maghi o da guaritori e ciarlatani che vantavano i più stupefacenti successi terapeutici. Oltre a ciò, la frequente coesistenza di più scuole di pensiero intorno alla natura dei fenomeni morbosi ha suscitato in passato accese controversie nelle quali i rappresentanti della scuola medica dominante consideravano i propri avversari come esponenti di una medicina aberrante.

Fermando ora l'attenzione su ciò che è avvenuto in Europa a cavallo fra il XVIII e il XIX sec., mentre da un lato l'anatomia patologica aveva cominciato a svilupparsi rigogliosamente e ad influenzare potentemente la ricerca clinica, in molti Paesi europei erano andate sorgendo e diffondendosi largamente numerose dottrine mediche — i cosiddetti «sistemi medici» — particolarmente rigide, formate da pochi princìpi generali tanto semplici quanto immutabili.

Questi sistemi, pur contenendo idee o prassi terapeutiche che più tardi avrebbero trovato parziale accettazione nella medicina scientifica (si pensi al concetto di infiamma-



Digitized by Google

zione ed all'uso del salasso), non potevano dirsi scientifici nel senso rigoroso del termine poiché non mostravano alcuna capacità di autocorreggersi sulla base delle acquisizioni empiriche.

Nella seconda metà dell'800, via via che la medicina scientifica andava prendendo vigore, strutturandosi come un sistema unitario di conoscenze sempre più strettamente collegato con le scienze biologiche fondamentali, con la fisica e con la chimica, i vari «sistemi medici» andarono incontro ad un rapido declino e scomparvero senza quasi lasciare traccia. Soltanto uno fra questi sistemi, l'omeopatia (v.), non subì il destino degli altri ed andò invece incontro ad una fortuna crescente, diffondendosi largamente in diversi Paesi europei. Questo stato di cose portò ai primi conflitti fra la medicina scientifica e la dottrina omeopatica, che fin da allora si presentava come un sistema teorico e come una pratica terapeutica opposti e quindi alternativi a quelli su cui si fondava la medicina accettata dalla comunità scientifica internazionale. Già nel 1819 il governo austriaco aveva vietato le cure omeopatiche, ma probabilmente il primo scontro pubblico, in Italia, si verificò nel 1844 durante la Sesta Riunione degli Scienziati Italiani a Milano, quando l'assemblea della Sezione Medica si espresse categoricamente contro l'omeopatia.

Nella prima metà del secolo scorso l'agopuntura cinese (v. AGOPUNTURA; AGOPUNTURA*), conosciuta già attraverso gli scritti dei missionari gesuiti, cominciò ad essere praticata, sia pure in modo sporadico, in Europa. In Italia sembra che sia stata introdotta dapprima in Veneto per opera di medici non universitari che avevano subito l'influenza della cosiddetta «medicina romantica» e della filosofia della natura tedesca. In tutta Europa, peraltro, l'interesse verso l'agopuntura fu molto scarso fino al 1930, quando un diplomatico francese, G. Soulié de Morant, seppe suscitare un'attenzione molto viva verso la medicina cinese.

Nella prima metà del nostro secolo le medicine non ortodosse andarono pian piano diffondendosi e trovando un certo numero di medici convinti assertori della loro utilità e del fatto che esse potessero integrare o addirittura soppiantare la medicina scientifica ufficiale; nel secondo dopoguerra, poi, le pratiche terapeutiche alternative si sono rapidamente diffuse in vari strati della popolazione. Questo fenomeno, tuttora operante, ha riconosciuto e riconosce cause molto diverse, fra le quali le più importanti consistono nel generale impoverimento del rapporto umano fra medico e malato indotto dai progressi tecnico-scientifici e nel gran numero di medici giovani che non riescono a trovare opportunità di lavoro nell'ambito della medicina ufficiale. Oltre che da questi fattori l'attuale diffusione della m. a. è stata notevolmente favorita dal pluralismo culturale della nostra epoca ampiamente tollerante verso qualunque forma di pensiero, e da un clima ideologico caratterizzato da un atteggiamento ostile verso la scienza ed aperto verso l'irrazionale e verso un mitico ritorno alla natura, concepita esclusivamente come incontaminata ed amica dell'uomo.

**Il problema epistemologico della medicina alternativa**

La m. a. è costituita da un insieme di dottrine e di pratiche curative che si differenziano enormemente da quelle conoscenze e da quelle pratiche terapeutiche caratteristiche di quella medicina che viene universalmente chiamata scientifica e che viene ufficialmente insegnata ed applicata nelle Università di tutto il mondo. Sul piano del contenuto, la quasi totalità delle «medicine eretiche» si fonda infatti su teorie che non fanno alcun riferimento o che sono addirittura in aperto contrasto con le conoscenze morfologiche, biochimiche, fisiologiche, istopatologiche e farmacologiche sulle quali poggia interamente l'attuale attività clinica.

A volte la m. a. viene contrapposta alla medicina ufficiale soltanto in base al fatto che quest'ultima si identificherebbe con la medicina insegnata nelle Università. Secondo questo punto di vista, quindi, medicina ufficiale e «medicine eretiche» sarebbero divise soltanto dalla circostanza che, mentre la prima è stata riconosciuta e accettata dallo Stato, le seconde non avrebbero ancora ottenuto tale riconoscimento. È evidente invece che la diversità esistente fra medicina ufficiale e m. a. non deriva da una semplice situazione giuridico-amministrativa. In realtà, la medicina che è oggetto ufficiale di insegnamento nelle Università di tutto il mondo vi viene insegnata perché viene riconosciuta come la medicina scientifica, analogamente a quanto avviene per la chimica rispetto all'alchimia o per l'astronomia rispetto all'astrologia. Risulta quindi evidente che non è il fatto che la medicina accademica viene riconosciuta dallo Stato che fa di essa la medicina scientifica, ma che invece è proprio il fatto che essa è una medicina fondata sulla scienza che ha fatto di essa la medicina ufficiale.

Ovviamente, una volta chiarito che ciò che divide la medicina ufficiale dalla medicina non ufficiale risiede nel fatto che la prima è una medicina scientifica, rimane ancora da analizzare il problema epistemologico fondamentale, quello cioè di determinare quale sia l'elemento o il gruppo di elementi che permette di demarcare la scienza dalla pseudoscienza.

Il problema del criterio di individuazione della scienza rappresenta una fondamentale e complessa questione epistemologica che ha ricevuto, da parte dei filosofi della scienza, risposte diverse. Senza entrare nei dettagli è possibile affermare molto brevemente che finora la scienza sperimentale è stata individuata da qualcuno dei seguenti elementi:

1) descrizione obiettiva, cioè fedele, neutrale, completa ed intersoggettiva dei fatti;
2) applicazione sistematica dei procedimenti induttivi;
3) possibilità di effettuare esperimenti;
4) misurazione dei fenomeni e applicazione del calcolo matematico a queste misure;
5) capacità di verificare empiricamente le proprie teorie;
6) possibilità di raggiungere verità empiriche generali definitive e possibilità di dimostrare di averle raggiunte;
7) applicazione sistematica del metodo sperimentale o galileiano;
8) capacità di definire operativamente i propri concetti;
9) capacità di autocorreggere i propri errori.

In realtà, alcuni di questi criteri si sono dimostrati inapplicabili, almeno in modo integrale, e non possono quindi essere assunti come i caratteri distintivi della scienza. In particolare, la possibilità di ottenere una verifica definitiva delle teorie ed il raggiungimento di una verità scientifica sottratta ad ogni possibile dubbio si sono ormai dimostrati mete irraggiungibili per la scienza. Per quanto, tuttavia, gli elementi considerati siano, nel loro complesso, di grande importanza per distinguere le affermazioni scientifiche da quelle pseudoscientifiche, l'epistemologo Karl R. Popper ha sostenuto che l'ambito della scienza è circoscritto e definito solo dal criterio di falsificabilità. Tale criterio, ormai largamente riconosciuto come l'unico capace di demarcare adeguatamente la scienza, sostiene che sono affermazioni genuinamente scientifiche solo quelle che possono venire confutate da un'osservazione empirica. Come ha scritto lo stesso Popper, «puoi descrivere una qualsiasi osservazione possibile che, effettivamente compiuta, confuterebbe la tua teoria? Se non lo puoi, allora è chiaro che la teoria non ha il carattere di una teoria empirica; infatti se tutte le osservazioni concepibili vanno d'accordo con la tua teoria, allora non hai il diritto di pretendere che una qualsiasi osserva-





Digitized by Google

zione particolare offra un sostegno empirico alla tua teoria. Oppure, per dirla più in breve: solo se puoi dirmi in che modo la tua teoria possa essere confutata, o falsificata, possiamo accettare la pretesa che la tua teoria abbia il carattere di una teoria empirica».

Le varie forme di m. a. appaiono diverse fra loro sotto l'aspetto dello *status* scientifico. Mentre, infatti, alcune sono fondate su poche e semplici regole empiriche, dalle quali vengono ricavati ovvi consigli terapeutici, nella grande maggioranza esse si presentano del tutto avulse dal sapere scientifico e quindi come pseudoscienze. Sul piano metodologico le osservazioni su cui si fondano concernono quasi sempre disturbi di tipo soggettivo, sono molto spesso grossolanamente incomplete e vengono espresse in una forma qualitativa che non permette quasi mai di raggiungere un accordo intersoggettivo sui fatti. Inoltre, nelle m. a. che possiedono un apparato teorico più elaborato, come la omeopatia (v.) o l'agopuntura (v.; v.*) cinese, è evidente l'introduzione di termini e concetti che non hanno alcun contatto con la realtà empirica e che perciò possono a buon diritto essere qualificati come puramente metafisici. Infine — e questo sembra il difetto più grave — le teorie delle m. a. non sono falsificabili dall'esperienza e vengono mantenute in vita attraverso l'iniezione continua di ipotesi *ad hoc*. Esse, quindi, trovano ovunque soltanto conferme, si mantengono sempre uguali nel tempo senza modificarsi progressivamente come avviene nel caso delle vere teorie scientifiche.

Sul piano del contenuto le m. a. violano il principio della sistematicità del sapere scientifico. Mentre infatti le teorie della scienza tendono a fondersi in un'unica costruzione concettuale, le teorie delle medicine non ortodosse non mostrano alcuna tendenza ad unificarsi e vivono come sistemi di idee isolati che sfuggono ogni confronto critico.

**La pratica della medicina alternativa**

Le diverse forme di medicina non ufficiale hanno oggi una larghissima diffusione in tutti i paesi del mondo occidentale e vengono praticate sia da laureati in Medicina che da non medici.

Una adeguata stima della diffusione di queste pratiche terapeutiche non sembra attualmente possibile poiché la maggior parte delle attività mediche non scientifiche sfugge ad ogni registrazione pubblica. Introna riporta un'indagine condotta dal CENSIS negli anni 1982 e 1983 secondo la quale esisterebbero in 15 città-campione italiane almeno 43 centri di agopuntura e 212 centri di forme particolari di psicoterapia con un'utenza di 50.000-100.000 persone/anno per i primi e di 100.000 persone/anno per i secondi; inoltre, secondo una valutazione certamente errata per difetto, in tutto il territorio nazionale i centri di tal genere sarebbero alcune migliaia. Secondo tale indagine le prestazioni alternative che vengono effettuate sarebbero le seguenti: agopuntura, argillo-terapia, bioritmologia, chiropratica, macrobiotica, elettroagopuntura, elettroterapia, fitoterapia, ipnosi, idroterapia, musicoterapia, omeopatia, riflessoterapia, vegetarismo, yoga, antroposofia, auricoloterapia, medicina yurvedica, cromoterapia, iridologia, Hata-yoga, massaggio zonale del piede, pranoterapia.

Secondo Velimirovic nell'Europa occidentale si spenderebbero 2,3 bilioni di marchi all'anno per la m. a., con una quota d'incremento del 7% annuo. Negli ultimi anni sono sorte numerose case di cura private che praticano metodi di cura non scientifici. Inoltre, gli aderenti a varie dottrine non scientifiche pubblicano riviste ed hanno fondato varie associazioni e società che esercitano un'azione di pressione sull'opinione pubblica e sui politici per ottenere un riconoscimento ufficiale delle proprie attività terapeutiche.

Di fronte a questo stato di cose la medicina scientifica ufficiale non ha mostrato finora di reagire. Al di fuori di pochi casi isolati sia le Facoltà mediche che le Società scientifiche e gli Ordini dei Medici non si sono opposti al proliferare delle medicine non scientifiche.

**Il problema medico-legale della medicina alternativa**

La pratica della medicina non scientifica solleva un delicato e difficile problema etico e medico-legale.

Infatti, come è sotto gli occhi di tutti, lo Stato controlla e disciplina le attività mediche e prescrive che queste vengano effettuate esclusivamente da laureati in Medicina e Chirurgia e quindi da professionisti che si siano formati sulla base degli studi scientifici espressamente previsti dalla legge; inoltre il *Codice di Deontologia Medica* comanda che il medico eserciti la sua attività «secondo scienza e coscienza». Nella realtà, come si è detto, le attività mediche alternative vengono spesso esercitate sia da laureati in Medicina che da non medici. Di fronte a questa situazione di fatto, sono venute configurandosi tre posizioni diverse. Da un lato alcuni sostengono che le attività terapeutiche che rientrano nella m. a. non rappresentano vere e proprie attività mediche e che quindi possono venire esercitate anche da persone non laureate in Medicina; da un altro lato altri sostengono che le m. a., essendo attività finalizzate alla guarigione e dovendo comunque essere fondate su un giudizio diagnostico, sono vere attività mediche e devono quindi essere praticate soltanto dai laureati in Medicina. Infine, altri ancora accettano l'idea che le m. a. siano attività mediche, poiché effettivamente finalizzate ad ottenere la guarigione, ma che, per la loro natura intrinsecamente pseudoscientifica, non devono essere praticate dai laureati in Medicina e Chirurgia.

È evidente che queste tre posizioni teoriche assumono una grandissima importanza in relazione alle conseguenze giuridiche che possono derivare a chi pratica una m. a. La prima posizione infatti comporta la non punibilità dei medici che esplichino attività come l'omeopatia o l'agopuntura, ma trascina con sé la conseguenza che questi medici, così facendo, si dedicano ad attività non mediche. La seconda posizione comporta la punibilità di coloro che esercitano le medicine non ortodosse in mancanza della laurea in Medicina, ma al tempo stesso legittima pienamente i medici a praticare anche attività quasi magiche come la pranoterapia o del tutto ciarlatanesche. Infine, la terza posizione punisce i non medici che si dedicano alle m. a. in quanto esercitano attività mediche, e contemporaneamente proibisce ai medici di applicarsi a tali pratiche in quanto attività mediche pseudoscientifiche.

**Bibliografia**


Baldini M., *Epistemologia contemporanea e clinica medica*, 1975, Città di Vita, Firenze.

Campanelli E., Alberti L., *I contromedici. Profili di guaritori internazionali*, 1976, Soc. Ed. Dante Alighieri, Roma.

Federspil G., *I fondamenti del metodo in medicina clinica e sperimentale*, 1980, Piccin, Padova.

Federspil G., Scandellari C., *Medicina scientifica e medicina alternativa*, in *Medicina-Riv. EMI*, 1984, **4**, 433; 1985, **5**, 89.

Ferrieri G., Lodispoto A., *Cento modi per guarire*, 1984, Mondadori, Milano.

Hamburger J., *L'avventura umana e l'avventura medica*, 1982, Armando, Roma.

Hill A. ed., *Enciclopedia della medicina alternativa*, 1980, Fabbri, Milano.

Inglis B., West R., *Guida alla medicina alternativa*, 1984, Mondadori, Milano.

Olivetti M., *SIMG, Rivista della Società Italiana di Medicina Generale*, 1986, **3**, 37.

Perico G., *La pranoterapia e la medicina ufficiale*, in *Problemi di etica sanitaria*, 1985, Ed. Ancora, Milano.

Poli E., *Homo sapiens. Metodologia dell'interpretazione naturalistica*, 1972, Vita e Pensiero, Milano.






Digitized by Google

Popper K. R., *Scienza e filosofia. Problemi e scopi della scienza*, 1969, Einaudi, Milano.
Premuda L., *L'agopuntura tra Veneto e Cina*, in *Sviluppi scientifici, prospettive religiose, movimenti rivoluzionari in Cina*, 1975, Olschki, Firenze.
Sembianti G., *Trattato di riflessoterapia, agopuntura. Basi scientifiche dell'agopuntura e dell'auricoloterapia*, 1980, Piccin, Padova.
Tuomela R., *Scienza, protoscienza e pseudoscienza*, in Pera M., Pitt J., *I modi del processo. Teorie ed episodi della razionalità scientifica*, 1985, Il Saggiatore, Milano.
Velimirovic B., *Nuova Civiltà delle Macchine*, 1988, 4, 56.
Ziman J., *Si deve credere alla scienza?*, 1983, Laterza, Bari.

GIOVANNI FEDERSPIL

**MEDICINA NUCLEARE**: v. ISOTOPI (VIII, 599); ISOTOPI*; SCINTIGRAFIA (XIII, 2199); SCINTIGRAFIA*.

**MEFLOCHINA**: v. ANTIMALARICI SINTETICI*; MALARIA*.

**MEGACOLON** [v. vol. IX, col. 695]

SOMMARIO



## MEGACOLON CONGENITO

### Introduzione

Attualmente il megacolon congenito (malattia di Hirschsprung, MH) appare come una patologia di più complessa interpretazione che in passato. Le moderne conoscenze embriogenetiche, anatomiche ed immunoistochimiche hanno evidenziato in maniera esauriente, anche se non sempre univoca, le modalità di sviluppo, la distribuzione dell'innervazione, i diversi meccanismi di neurotrasmissione e le alterazioni nervose che presiedono alle caratteristiche fisiopatologiche della malattia. Le alterazioni neurali sono indubbio sinonimo di disfunzione motoria, ma il difetto di innervazione non coinvolge il controllo delle secrezioni e la sensibilità delle mucose: questo spiega l'impressione clinica di una preservata sensibilità profonda e di un'attività secretiva normale da parte della mucosa rettale.

### Etiopatogenesi

*Embriopatogenesi*

Le differenti ipotesi prospettate per spiegare le alterazioni strutturali intramurali del m. congenito (assenza di cellule gangliari ed ipertrofia delle fibre nervose amieliniche) sono basate sui seguenti elementi.

1) Ridotto numero di precursori originati dalla cresta neurale.

2) Dissociazione tra migrazione dei neuroblasti ed accrescimento intestinale.

3) Cause genetiche: assenza familiare del plesso mioenterico. Questi casi di MH familiare costituiscono il 2-8% del totale e presentano alcune caratteristiche distintive: un più lungo segmento agangliare, l'assenza di fibre nervose ipertrofiche, un decorso ed una prognosi peggiori.

4) Catastrofi vascolari od infettive intrauterine (possibile ruolo del citomegalovirus).

5) Interferenze nella migrazione dei neuroblasti: quali migrazione lenta o arresto di migrazione caudale. A questo proposito vanno ricordate le due teorie di sviluppo e di progressione dei neuroni enterici.

a) Secondo la prima di tali teorie, basata sull'esistenza di un singolo gradiente cranio-caudale, la MH è il risultato di un arresto della migrazione caudale dei neuroblasti (Okamoto, 1967).

b) La seconda teoria prevede invece l'esistenza di un duplice gradiente di sviluppo a partenza dalle due estremità dell'intestino verso il centro. In questo caso un difetto di differenziazione cellulare oppure la morte di ampi gruppi di cellule sarebbero il risultato dei numerosi mutamenti microambientali successivi (Gershon, 1980).

6) Alterazione dei componenti proteici della matrice extracellulare in fase embrionale precoce (fibronectina, ac. ialuronico, laminina, collagene IV) e conseguente arresto nella migrazione delle cellule derivate dalle creste neurali. La fibronectina, in particolare, induce la migrazione delle cellule derivate dalle creste neurali e promuove la loro adesione nella sede anatomica definitiva; l'ac. ialuronico lavora come molecola di adesione cellulare. Altre glicoproteine (laminina e collagene IV) promuovono i processi di sviluppo assonale e di differenziazione gangliare (Fujimoto, 1989).

*Alterazioni dell'innervazione*

Mentre l'innervazione «estrinseca» del colon è dovuta a fibre nervose simpatiche, l'innervazione «intrinseca» è supportata da tre plessi nervosi parasimpatici: plesso mioenterico di Auerbach, plesso sottomucoso profondo di Henle e plesso sottomucoso superficiale di Meissner.

Questi plessi sono costituiti dai nuclei di neuroni postgangliari parasimpatici, mentre le fibre pregangliari provengono dai neuroni del nervo vago.

La neurotrasmissione è di tipo misto, colinergica ed adrenergica. Recentemente è stata accertata l'esistenza di un terzo sistema, purinergico, il cui neurotrasmettitore è l'ATP. La sua azione è inibitrice della contrazione muscolare e probabilmente è responsabile del rilasciamento del muscolo sfintere interno dell'ano. Anche un ulteriore contingente di fibre nervose, vipergiche, sembra implicato nella complessa fisiopatologia della neurotrasmissione.

Una volta illustrato questo normale substrato anatomofunzionale, si possono così riassumere le alterazioni nervose che motivano l'assenza della peristalsi, e quindi l'occlusione, tipica del m. congenito:

— assenza di cellule gangliari nei plessi mioenterico e sottomucoso;

— incremento del numero di fibre acetilcolinesterasi positive, che si presentano ipertrofiche e di maggiore spessore;

— assenza o disfunzione delle fibre nervose del sistema inibitore adrenergico;

— diminuzione delle fibre nervose vipergiche (responsabili di un'inibizione non-adrenergica) ed alterazione di altre fibre del sistema nervoso peptidergico che utilizzano come neurotrasmettitore la sostanza «P», la metencefalina e il GRP (*Gastrin Releasing Peptide*);

— assenza del sistema purinergico (sistema inibitore non-adrenergico);

— incremento dell'attività eccitatoria adrenergica/colinergica ed aumento dell'attività acetilcolinesterasica nel siero e nei globuli rossi. La concentrazione tessutale di noradrenalina (neurotrasmettitore adrenergico) è incrementata nel segmento agangliare di 2-3 volte rispetto al tessuto intestinale normale e quale comprova si osserva un aumento di tirosina-idrossilasi, enzima deputato alla regolazione della biosintesi della noradrenalina stessa. Un'iperattività eccitatoria adrenergica potrebbe quindi contribuire ad un aumento del tono muscolare e ad un'irregolare attività peristaltica del segmento colpito da MH.



Digitized by Google

Nel complesso, anche se l'etiopatogenesi del m. congenito appare neurogena, la muscolatura liscia nel segmento agangliare ha un tono normale ed un normale meccanismo di coppia eccitazione/contrazione e risponde agli agonisti colinergici/adrenergici in modo tale da indicare un normale assetto recettoriale.

La caratterizzazione istochimica del m. congenito è basata sul fatto che l'innervazione colinergica del tratto agangliare è cospicua e che queste fibre contenenti acetilcolinesterasi (AChE) e quindi indicate come AChE+ contengono altresì maggiori quantitativi di acetilcolina (ACh). Contemporaneamente, il tratto ristretto agangliare non contiene gangli nervosi; diversamente, nella zona di transizione sono presenti poche fibre AChE+ ed alcuni gangli nervosi.

Lo studio immunoistochimico utilizza anticorpi monoclonali anti-NSE (*Neuron Specific Enolase*, *marker* specifico per gli assoni), anti-S100 ed anti-D7 (*markers* specifici per le cellule di Schwann integre), anti-NFP (*Neurofilament Protein*) e anti-GFAP (*Glial Fibrillary Acidic Protein*).

Per mezzo di questi anticorpi monoclonali, vengono evidenziati ed analizzati gli elementi neuronali presenti nella lamina propria della mucosa e nella *muscularis mueosae* dei segmenti intestinali colpiti. I frammenti di tessuto da esaminare vengono prelevati con la metodica della *rectal suction biopsy* in due siti distinti.

La morfologia e la distribuzione dell'attività AChE cambiano con l'età, tanto da rendere possibile l'individuazione di tre differenti aspetti:

1) oltre i 3 mesi di età: tronchi nervosi ispessiti presenti solo nella tonaca sottomucosa ed assenza di attività AChE nella lamina propria (*aspetto neonatale*);

2) oltre 1 anno di età: sottili fibre nervose nella *muscularis mucosae* e nella sottomucosa, con chiara infiltrazione della lamina propria (*aspetto classico*);

3) *aspetto intermedio*, simile al primo (3A) oppure al secondo (3B).

Una possibile spiegazione del comportamento evolutivo delle fibre colinergiche (AChE+) consiste nelle conseguenze della privazione di cellule gangliari: infatti, ciò comporterebbe una continua e progressiva dicotomizzazione delle fibre colinergiche pregangliari, fino ad ottenere un reticolo di fibre nervose sottili, disposte ampiamente, tanto da raggiungere la lamina propria.

## Elementi di diagnosi

Accanto alle metodiche radiologiche, la manometria anorettale, l'elettromiografia e la biopsia costituiscono le metodiche di diagnosi più valida nel m. congenito.

### *Caratteri radiologici*

Un esame radiografico correttamente eseguito deve sempre comprendere le seguenti proiezioni: anteroposteriore supina, anteroposteriore in stazione eretta, anteroposteriore invertogramma, laterolaterale in decubito laterale. Il clisma opaco dovrà comprendere dei radiogrammi immediati, altri eseguiti a fine riempimento ed inoltre delle lastre tardive a 24 ore di distanza da quelle iniziali.

I caratteri distintivi più significativi per una diagnosi di m. comprendono:

— l'assenza di aria nel retto;

— la presenza del cono di transizione (con indice retto/sigma inferiore ad uno);

— un'abnorme ritenzione di bario (talora oltre le 72 h);

— un'attività contrattile irregolare (osservabile sotto fluoroscopia);

— un aspetto di fissità del colon (forma a punto interrogativo), con diminuzione della peristalsi;

— la presenza di pliche trasversali parallele (aspetto di digiunalizzazione del colon).

### *Manometria anorettale*

La manometria anorettale, da eseguire anche nel periodo postoperatorio, in caso di MH può evidenziare l'assenza del riflesso anale inibitore (RAI).

Con il palloncino situato nel segmento agangliare, ogni incremento volumetrico e pertanto ogni distensione rettale è seguito da un aumento della pressione del retto, quale conseguenza del mancato rilasciamento delle pareti intestinali. Nel soggetto normale, viceversa, il rilasciamento del muscolo sfintere interno dell'ano è la risposta abituale ad uno stimolo di distensione del retto.

### *Elettromiografia*

Per mezzo dell'elettromiografia del colon, già dal primo mese di vita è possibile una differenziazione tra la zona di normale innervazione (presenza di normali *spikes* ad alta frequenza) e la zona agangliare, che invece dimostra un ritmo elettrico di base irregolare, con onde di varia durata ed in assenza di potenziali ad alta frequenza.

### *Biopsia*

La sede della biopsia è fondamentale nello studio delle cellule agangliari. Infatti, poiché un'agangliа è fisiologica nel tratto distale del canale anale, il prelievo deve essere effettuato al di sopra della linea pettinata (almeno 1 cm nel neonato e 4 cm nel bambino). Secondo alcuni AA. giapponesi le cellule gangliari del plesso di Meissner hanno una normale densità di distribuzione già 0,5 mm al di sopra della linea suddetta.

## Tecniche chirurgiche: complicanze

L'infezione e/o la deiscenza della ferita chirurgica, il *leakage* dell'anastomosi, l'ascesso pelvico, l'occlusione intestinale, la stenosi, il *soiling*, l'enterocolite, la mortalità intraoperatoria costituiscono l'ampio spettro delle complicanze

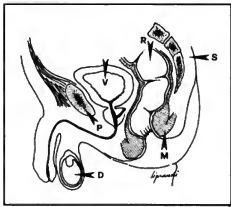
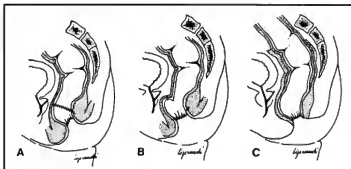



Fig. 1. Schema topografico della regione colorettoanale. D) Didimo; M) apparato sfinteriale dell'ano; P) pube; R) intestino retto; S) vertebre sacrali; V) vescica.





Digitized by Google

Fig. 2. Correzione chirurgica del m. congenito. Risultato finale ottenuto mediante le tecniche di: Swenson (*A*); Duhamel (*B*); Romualdi-Soave (*C*). Spiegazione nel testo.

dell'intervento chirurgico per m. congenito. La loro incidenza varia a seconda della tecnica operatoria utilizzata (tabb. I e II; figg. 1 e 2).

Con la *tecnica di Swenson* (eseguita di preferenza oltre l'anno di età) il *leakage* dell'anastomosi è particolarmente pericoloso poiché la linea di sutura è compresa tra i muscoli elevatori in basso e la cupola di peritoneo in alto ed un eventuale ascesso darà segno di sé solo aprendosi nel cavo peritoneale.

Possono inoltre comparire segni di incontinenza fecale od urinaria, tipici segni di un'ostruzione residua (resezione insufficiente) e non necessariamente segno di una lesione nervosa. Rara è l'impotenza. Meno frequente è la comparsa di una fistola o di una stenosi dell'anastomosi coloanale: quest'ultima è più spesso una complicanza tardiva, che nella maggior parte dei casi può essere dilatata con successo. Grande è invece il rischio di un'enterocolite, la cui frequenza non diminuisce neppure con l'exeresi radicale del retto associata a sfinterectomia parziale interna. Questi bambini beneficiano di un trattamento decompressivo con sonde rettali ed irrigazione del colon, di eventuali dilatazioni e talora di una sfinterectomia.

**TAB. I. FASI SEQUENZIALI DELLE PRINCIPALI TECNICHE CHIRURGICHE PER LA CORREZIONE DEL MEGACOLON CONGENITO (*MALATTIA DI HIRSCHSPRUNG*)**

**Intervento secondo Swenson**
- Dissezione dell'intestino retto.
- Eversione dell'intestino retto.
- Trazionamento sul retto prolassato e riconoscimento della giunzione mucocutanea.
- *Pull-through* del colon.
- Anastomosi coloanale (fig. 2, *A*).

**Intervento secondo Duhamel**
- Dissezione retrorettale.
- Sezione del retto, asportazione, sutura del moncone rettale.
- Incisione sull'emicirconferenza posteriore del canale anale.
- *Pull-through* retrorettale e transanale.
- Anastomosi coloanale ed enterotripsi (fig. 2, *B*).

**Intervento secondo Romualdi-Soave**
- Dissezione rettale con separazione delle tonache mucosa e muscolare.
- Incisione della mucosa anale sopra la linea pettinata.
- *Pull-through* intrarettale del colon.
- Resezione del colon.
- Anastomosi coloanale (fig. 2, *C*).

La *tecnica di Duhamel* viene eseguita al di sotto dell'anno di età. Il *soiling* ed i fecalomi tardivi sono pressoché scomparsi con l'utilizzo delle tecniche di riduzione dell'ampiezza della tasca rettale.

Inoltre, la minore dissezione pelvica e le ridotte perdite ematiche riducono la percentuale di complicanze infettive, settiche, nei confronti delle altre metodiche. Anche le stenosi sono attualmente minori che in passato, anche per le più precise linee di sutura che si ottengono con le suturatrici automatiche oggi disponibili.

**TAB. II. RAPPORTO TRA COMPLICANZE POSTOPERATORIE E TIPO DI TECNICA CHIRURGICA ADOTTATA**

| | *Leakage* | Enterocolite | Stenosi | Occlusione |
|---|---|---|---|---|
| Tecnica di Swenson | +++ | ++ | + | + |
| Tecnica di Duhamel | + | +− | + | + |
| Tecnica di Romualdi-Soave | +− | + | +++ | +− |

Con la *tecnica di Romualdi-Soave* (eseguita di preferenza tra 6 e 12 mesi) è temibile la comparsa di un ascesso, per lo più situato tra la cuffia muscolare rettale ed il colon gangliare abbassato. La stenosi è la complicanza più importante e talora non è dilatabile. Tra le complicanze minori ricordiamo i lievi prolassi di mucosa rettale.

**Bibliografia**

Capozzi A., *Congenital Rectocolic Aganglionosis. Current Surgical Treatment*, 1981, Ed. Minerva Medica, Torino.
Foster P., Cowan G., Wrenn E. L. jr., *J. Pediatr. Surg.*, 1990, **25**, 531.
Larsson L. T., Malmfors G., Sundler F., *Pediatr. Surg. Int.*, 1988, **3**, 147-155.
Nixon H. H., *Surgical Treatment of Hirschsprung Disease*, in Holschneider A. M. ed., *Hirschprung's Disease*, 1982, Thieme-Stratton, New York, pp. 103-113.
Polley T. Z. jr., Coran A. G., Wesley J. R., *Pediatr. Surg. Int.*, 1986, **1**, 90.
Puri P., Fujimoto T., Shepperd B., *Pediatr. Surg. Int.*, 1989, **4**, 326-331.
Sherman J. O., Snyder M. E., Weitzman J. J. *et al.*, *J. Pediatr. Surg.*, 1989, **24**, 833.
Steichen F. M., Spigland N. A., Nunez D., *J. Pediatr. Surg.*, 1987, **22**, 436.
Tam P. K. H., Boyd G. P., *J. Pediatr. Surg.*, 1990, **25**, 457-461.

CAMILLO BOGLINO, GUIDO CIPRANDI
E ALESSANDRO INSERRA




Digitized by Google

## MELANOMA [v. vol. IX, col. 743]

SOMMARIO



### Fattori causali

È bene dire sobito che le cause del melanoma [m.] non sono state ancora identificate.

Numerosi elementi sono stati chiamati in causa (fattori familiari, chimici, fisici, traumatici, etc.). Per nessuno di questi è stato però confermato un ruolo chiaro e definitivo nell'etiopatogenesi del m. Due di questi aspetti, i fattori genetici e la radiazione solare, vengono qui considerati alla luce degli studi più recenti.

L'importanza dei *fattori genetici* nell'insorgenza di moltissimi tumori è innegabile e questo è ormai confermato anche per i m. Esistono infatti dati epidemiologici che indicano la particolare frequenza dei m. cutanei all'interno di alcune famiglie, eventualmente in associazione con altri tipi di neoplasie (Bale *et al.*, 1985; Duggleby *et al.*, 1981; Ghidoni *et al.*, 1983; Greene e Fraumeni, 1979; Hors *et al.*, 1984; Wallace *et al.*, 1983; Rovini *et al.*, 1988). Più recentemente è stata dimostrata la frequente associazione dei m. con anomalie cromosomiche specifiche. Queste interesserebbero in modo particolare il braccio corto del cromosoma 6 e più raramente il cromosoma 1.

Esiste la possibilità di un'associazione di queste aberrazioni e sarebbe stata notata anche una loro comparsa in concomitanza con ona fase di rapida progressione clinica della malattia e con il processo di metastatizzazione (Sozzi *et al.*, 1990; Trent *et al.*, 1989). Questo tipo «non casuale» e ripetitivo di delezione cromosomica è probabilmente determinante per l'attivazione di specifici oncogèni cellulari (*ros*, *myb*, *masI*) e per l'innesco del processo di trasformazione neoplastica. Questa interpretazione è confermata dall'osservazione sperimentale su alcune specie di pesci tropicali (*Xyphophorus*), nei quali la perdita di attività di singoli geni soppressori determina costantemente la comparsa di m. cutanei di grandi dimensioni (Anders *et al.*, 1987). Di notevole interesse è poi il dato pubblicato recentemente da Trent (1990), relativo alla possibilità di restitoire un fenotipo di assoluta normalità a cellule di m. umano coltivate *in vitro* grazie all'introduzione, con tecnica microchirurgica, di frammenti di cromosomi 6 umani nelle cellule tumorali.

La possibilità che i *raggi solari* possano essere uno dei fattori etiologici del m. cutaneo è stata avanzata per la prima volta da Lancaster nel 1956 (Lancaster, 1956). La ipotesi è stata ripresa circa dieci anni dopo sia in Australia (Beardmore, 1972) che negli Stati Uniti d'America dove era stata confermata una tendenza all'aumento di incidenza di qoesta malattia con l'approssimarsi all'equatore (Lee, 1982).

Dati discordanti sono però stati riportati in altri studi: così, ad es., i paesi dell'Europa mediterranea hanno meno m. rispetto a quelli dell'Europa del nord e, per latitudini corrispondenti a quelle dell'Europa continentale, anche negli Stati Uniti d'America non è più sicuramente dimostrabile l'aumento di incidenza della malattia in funzione della diminuzione della latitudine.

Inoltre, molti altri dati epidemiologici non confermano questa tanto diffusa convinzione. Per es., il fatto che i lavoratori più esposti alla luce solare (marinai, contadini) sono quelli meno esposti al rischio di m., oppure che il m. incide maggiormente nelle popolazioni residenti in aree urbane piuttosto che in campagna, o anche che i m. possano insorgere in popolazioni teoricamente protette dall'effetto delle radiazioni U.V. come quelle nere o, ancora, che il tumore si sviluppi in sedi come gli arti inferiori o le regioni plantari ovviamente non molto esposte alla luce solare (WHO, 1982; Green, 1982; Williams *et al.*, 1985). In altri termini, se un rapporto etiologico esiste tra luce solare e m., questo rapporto non è al momento facilmente interpretabile e quantificabile.

### Diagnosi

Una diagnosi corretta e precoce costituisce per il m., come per altre neoplasie, non soltanto il primo passo dell'*iter* clinico-terapeutico, ma anche un elemento prognostico determinante. Una diagnosi precoce garantisce infatti un trattamento rapido ed oncologicamente radicale, cosa che spesso non è più possibile nelle fasi successive della malattia.

L'esame clinico, che deve essere affidato a personale esperto, rimane a tutt'oggi il metodo più affidabile per ona corretta valutazione delle lesioni cutanee sospette. Ogni paziente portatore di lesione pigmentata sospetta deve essere inviato al centro specializzato più vicino ed eventualmente sottoposto ad exeresi «escissionale» completa della lesione a scopo diagnostico (fig. 1). Totalmente da proscrivere sono le biopsie incisionali ad eccezione di casi selezionatissimi (per es., estese lesioni di zone esteticamente rilevanti, come il volto).

È difficile insegnare il riconoscimento clinico in una trattazione necessariamente breve e con poche illustrazioni. Va comunque ricordato che la diagnosi clinica del m. a crescita orizzontale (fig. 2) è attualmente basata, per onanime consenso, solla formula A B C D, dove:

A definisce l'*asimmetria*. Il m. ha infatti ona forma irregolare, che ricorda l'aspetto di un'isola vista dall'aeroplano;

B definice i *bordi*, che sono indentati e nettamente delimitano la lesione dalla cute sana circostante;

C definisce il *colore*, che è di regola bruno-nerastro o bluastro e disomogeneamente distribuito nel contesto della lesione;

D definisce le *dimensioni*: il diametro massimo del m. è di solito superiore ai 6-7 mm.

La diagnosi del m. nodulare (fig. 3) è più difficile: può essere sospettata in funzione del colore e della presenza di piccole ulcerazioni superficiali. La citologia diagnostica può avere una sua rilevanza solo in presenza di tomori ulcerati ed ha comunque una affidabilità non assoluta. In una pro-

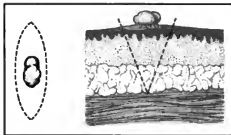



Fig. 1. Biopsia escissionale di lesione cutanea pigmentata a scopo diagnostico: è sufficiente rimanere poco al di fuori dei margini visibili della lesione ed asportare una minima quantità di derma sottostante.





Digitized by Google

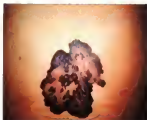



Fig. 2. Tipico aspetto di un m. a diffusione superficiale (*superficial spreading melanoma*). È evidente lo sviluppo orizzontale della lesione senza la componente verticale propria dei m. nodulari.

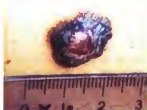



Fig. 3. M. nodulare. Lo sviluppo in senso verticale è prevalente, con infiltrazione dei tessuti sottostanti e crescita esofitica al di sopra del piano cutaneo.

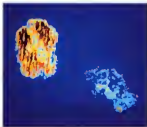



Fig. 4. Elaborazione elettronica dell'immagine di un m. cutaneo. Le caratteristiche dimensionali e cromatiche e l'irregolarità dei margini opportunamente analizzate ed elaborate dal computer forniscono informazioni sulla possibile malignità della lesione in esame.

spettiva futura un ausilio potrebbe essere offerto anche dall'informatica. Infatti, la particolare pigmentazione del m., la presenza di aree cromaticamente diversificate nel contesto della stessa lesione, la particolare irregolarità dei margini, l'esistenza di aree di autoregressione ed altri caratteri hanno permesso di mettere a punto un programma che permette di individuare, secondo modelli fisicomatematici, le lesioni a rischio, o quelle francamente neoplastiche, attraverso l'elaborazione elettronica dell'immagine della lesione stessa (fig. 4).

Per quanto riguarda il riconoscimento delle eventuali metastasi a distanza, i mezzi di diagnosi per immagini (radiografia standard, ecografia, TC, RMN) sono più che adeguati per un corretto *staging* dei pazienti. Invece non esiste attualmente alcun *marker* biologico specifico per una diagnosi precoce del tumore primitivo o di eventuali riprese. Il dosaggio della melanuria, molto in voga alcuni anni or sono, è risultato di nessun significato pratico.

Un cenno specifico meritano invece i tentativi fatti con gli anticorpi monoclonali radiomarcati. La possibilità di produrre *in vitro* anticorpi monoclonali anti-antigeni tumore-specifici e di marcarli con isotopi radioattivi ha infatti portato negli ultimi anni alla loro ampia utilizzazione per la ricerca di malattia nella sede primitiva nonché di localizzazioni a distanza non documentabili con i mezzi tradizionali (Hellstrom *et al.*, 1982; 1984; Larson *et al.*, 1983; Murray *et al.*, 1985; Buraggi *et al.*, 1985; Fawwaz *et al.*, 1985; Buraggi *et al.*, 1986).

Un'esperienza condotta in questo settore, da chi scrive, a partire dal 1982, ha evidenziato però che, nonostante l'altissima specificità e la buona accuratezza diagnostica, la scintigrafia con anticorpi monoclonali anti-melanoma (225-28S) marcati con diversi radioisotopi non ha completamente soddisfatto le aspettative. Infatti la elevata captazione del radionuclide a livello epatico, splenico e mediastinico limita in modo più che consistente l'utilità di questa indagine quando è indirizzata alla ricerca di localizzazioni metastatiche occulte del m. in sede viscerale.

**Classificazione istologica, stadiazione clinica e prognosi**

Sulla base di criteri istologici e istogenetici, i m. vengono attualmente suddivisi nei seguenti tipi principali.

1) M. a diffusione superficiale (fig. 2).
2) M. tipo *lentigo maligna*.
3) M. *acral lentigous*.
4) M. maligno mucocutaneo.
5) M. maligno nodulare (fig. 3).

I primi 4 tipi istologici sono caratterizzati da una fase preliminare di estensione superficiale di variabile durata e da una successiva fase invasiva del derma. Il m. nodulare è invece monofasico, con una precoce e rapida infiltrazione dei tessuti sottostanti. Pertanto anche se il tumore può inizialmente estendersi superficialmente, invadendo le aree vicine, il suo sviluppo avviene in profondità con infiltrazione progressiva del derma e del tessuto sottocutaneo e contemporaneamente con invasione delle reti vascolari linfatiche ed ematiche presenti in queste sedi. L'accrescimento del tumore in profondità costituisce quindi non soltanto un importante capitolo della storia naturale della malattia, ma rappresenta un elemento determinante ai fini prognostici.

Per questo motivo è indispensabile che, nella valutazione istologica di una diagnosi di m., l'anatomopatologo specifichi la profondità di invasione del m. secondo i 2 metodi oggi disponibili.

Il primo è rappresentato dal *livello di invasione secondo Clark*. Questo criterio, proposto da Clark nel 1969, distingue 5 differenti livelli di invasione (fig. 5).

Livello I: tutte le cellule neoplastiche sono sopra la membrana basale (cioè intraepidermiche). Questa lesione può essere anche definita *melanoma in situ*.

Livello II: le cellule neoplastiche si estendono al derma papillare.

Livello III: il tumore si estende alla parte più alta del derma reticolare, senza infiltrarlo.

Livello IV: il tumore infiltra il derma reticolare.

Livello V: le cellule neoplastiche raggiungono il tessuto sottocutaneo.

Il secondo metodo di classificazione istologica è quello basato sullo *spessore massimo secondo Breslow*.

Nel 1970 questo A. propose un metodo per la valutazione del grado di infiltrazione della neoplasia basato sulla misurazione (in mm) dello spessore del m. dalla superficie cutanea al punto più profondo di invasione. La misurazione viene effettuata facilmente con un oculare micrometrico. Molti AA., negli anni successivi, hanno dimostrato l'importanza ed il valore prognostico di entrambi questi parametri morfologici, tanto da renderli oggi indispensabili per una corretta valutazione clinica in ogni caso di m., sia per quello che riguarda la sopravvivenza a distanza di questi pazienti, sia per quello che riguarda la valutazione del rischio di ripresa locoregionale della malattia.

Dai più importanti studi pubblicati negli ultimi anni si possono infatti desumere, per la classificazione di Clark, i





Digitized by Google

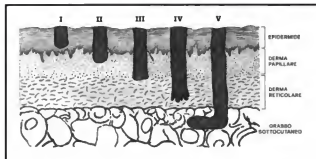



Fig. 5. M. cutaneo. Livello di invasione secondo Clark (cfr. testo).

seguenti valori medi di sopravvivenza a cinque anni: II livello 90%, III livello 68%, IV livello 50%, V livello 28%. Per quello che riguarda l'incidenza delle metastasi linfonodali, Lee (1980) riporta lo 0-15% per il II livello, il 4-18% per il III, il 17-45% per il IV, il 17-40% per il V (con valori medi del 4, 14, 27 e 33% rispettivamente).

Anche per lo spessore secondo Breslow sono state trovate correlazioni analoghe a quelle descritte per i livelli di Clark. Quanto maggiore è lo spessore del tumore, infatti, tanto minore è l'entità dei pazienti vivi a 5 anni. Breslow (1970) e altri AA. riportano il 100% di sopravvivenza per i casi con spessore del tumore sotto gli 0,75 mm, il 74% per quelli fra 1,0 e 1,50 mm, il 79% per gli spessori fino a 2,29 mm, il 44% nei casi fino a 3 mm ed il 22% per i m. con spessori massimi oltre questi valori.

Per quanto concerne la microinvasione dei linfonodi regionali, Wanebo *et al.* (1975) riportano, in assenza di metastasi regionali palpabili, un 5% per lesioni inferiori a 1,5 mm di spessore, un 8% per quelle fra 1,6 e 2 mm, un 22% per lesioni di 2,1-3,0 mm ed un 39% per lesioni più spesse di 3,0 mm. Balch *et al.* (1979) segnalano lo 0% per lesioni inferiori a 0,75 mm, il 25% fra 0,76 e 1,4 mm, 57% fra 1,5 e 4,0 mm ed un 62% per le forme superiori a 4 mm. In questa ultima casistica sono però inclusi anche pazienti con linfonodi clinicamente positivi.

Se lo spessore del m. primario ed il suo livello di infiltrazione sono in grado di influenzare decisamente la prognosi a distanza e la comparsa di metastasi linfonodali, a loro volta anche queste ultime sono strettamente correlate agli indici di sopravvivenza a 5 anni. Basti pensare che la situazione dei linfonodi regionali è così determinante da modificare anche le informazioni prognostiche derivate dalla conoscenza del livello di invasione del tumore primitivo. In pratica, i m. del IV livello di Clark senza interessamento linfonodale hanno una sopravvivenza a distanza dell'80%, contro il 27% per quello stesso livello con localizzazioni linfonodali (Karakousis *et al.*, 1980).

La diffusione embolica del m. nella rete linfatica presenta un carattere del tutto particolare rispetto ad altri tumori. Si tratta del così detto fenomeno della *satellitosi*. È questa una modalità di diffusione in discontinuità dal tumore primario, che si evidenzia sotto forma di colonizzazioni secondarie cutanee di pochi mm di spessore. Si ritiene che emboli neoplastici distaccatisi del m. possano penetrare nei vasi linfatici superficiali, essere trasportati dalla corrente linfatica, uscire dai linfatici a breve distanza e quindi dare origine ad una metastasi cutanea. Vengono anche definiti metastasi *in transit* in quanto si sviluppano lungo il percorso di diffusione linfatica interposto fra lesione primaria e linfonodi locoregionali (fig. 6). La conoscenza di questo particolare tipo di metastatizzazione è necessaria per comprendere le modalità di stadiazione clinica della malattia.

Tra le classificazioni più comunemente accettate si annoverano: *a*) quella in tre stadi clinici; *b*) quella dell'U.I.C.C. (TNM e pTNM); c) quella del M. D. Anderson Hospital. Nessuna di queste viene descritta in dettaglio, perché tutte, per un aspetto o per l'altro, non sono soddisfacenti per il clinico. L'esigenza di precise classificazioni, particolarmente sentita negli anni '50-'60, ha oggi perso gran parte del suo significato perché l'introduzione dei computer ha reso obsoleto il concetto di «stadio» per confrontare esperienze diverse. Il clinico deve solo sapere che la programmazione terapeutica deve essere basata sull'estensione anatomica della malattia.

Il tempo necessario affinché l'embolo neoplastico arrivi in corrispondenza del linfonodo regionale più vicino è difficilmente quantificabile, dipendendo da vari fattori quali la sede, la distanza fra il m. primario e la stazione linfonodale interessata ed altri ancora.

È probabile che trascorrano molti giorni (Cohen *et al.*, 1977; Day *et al.*, 1981), o forse alcune settimane, prima che le cellule tumorali possano raggiungere un linfonodo regionale ed invadere il suo seno marginale.

Le cellule tumorali, dopo essersi impiantate all'interno del linfonodo, sono in grado di moltiplicarsi e attraverso i

Fig. 6. Esempio di metastasi *in transit* sviluppatesi fra sede di origine del tumore primitivo e stazione linfonodale regionale.





Digitized by Google

vasi afferenti di invadere altre stazioni linfonodali vicine, colonizzando in senso centripeto il sistema linfatico. L'intervallo di tempo che solitamente passa prima che queste metastasi si rendano clinicamente evidenti è variabile ma spesso ammonta a diversi mesi. Il 50% delle metastasi linfonodali compare nel primo anno e i 2/3 diventano clinicamente evidenti entro 2 anni dalla diagnosi del m. primitivo (Balch *et al.*, 1981). Questo dato ha un suo valore pratico. Sembra infatti che quanto maggiore è l'intervallo libero, tanto migliore è la prognosi a distanza.

Altro elemento interessante è dato dal numero dei linfonodi metastatizzati. Veronesi *et al.* (1972) su 35 dissezioni successive riportano 15 casi (42,5%) con un unico linfonodo positivo, 4 casi (11,4%) con 2 linfonodi metastatizzati e 16 casi (45,6%) con 3 o più. Balch *et al.* (1981) in una casistica di 185 pazienti descrivono nel 37% dei casi un linfonodo positivo, nel 41% da 2 a 4 e nel 22% 5 linfonodi o più. Cascinelli *et al.* (1984) su 514 dissezioni hanno trovato nel 34% un solo linfonodo positivo, nel 21% due linfonodi e nel 43% tre o più linfonodi positivi. Come si può osservare, non è infrequente il riscontro di poche o anche di una sola struttura interessata. Questo confermerebbe la scarsa importanza delle stazioni linfonodali nel controllo della disseminazione a distanza del m.

In generale la sopravvivenza a 5 anni dei pazienti con metastasi linfonodali è del 37% (contro il 79-90% dei casi con m. maligno circoscritto alla sede primitiva) (Callery *et al.*, 1982). Tuttavia i pazienti che presentano localizzazioni linfonodali costituiscono un gruppo eterogeneo di soggetti con caratteristiche clinico-biologiche differenti. Questo ha spinto diversi AA. a cercare di individuare dei parametri tali da permettere di suddividere questi pazienti in gruppi specifici a differente rischio di ripresa della malattia. In effetti, l'accuratezza posta nell'effettuare una *microstadiazione* non ha un valore esclusivamente speculativo, in quanto permetterebbe di decidere anche sul piano più strettamente terapeutico quali soggetti sottoporre a sola terapia chirurgica e quali trattare anche con terapie complementari postoperatorie. Dei numerosi parametri utilizzati, quelli che dai dati della letteratura sembra siano risultati più significativi sono: 1) il numero dei linfonodi metastatici; 2) il tipo di invasione linfonodale da parte del tumore.

Sul primo dato l'accordo sembra essere generale. Quanto più numerosi sono i linfonodi interessati tanto peggiore risulta la prognosi a distanza (Day *et al.*, 1981; Balch *et al.*, 1981; Cascinelli *et al.*, 1984; Callery *et al.*, 1982; Urist *et al.*, 1983). Questo dato è stato confermato da una nostra analisi multifattoriale che ha anche evidenziato l'importanza delle caratteristiche patologiche della metastatizzazione linfonodale (embolica, massiva, extracapsulare) (Cascinelli *et al.*, 1984). Si può pertanto concludere che:

1) quando non sono documentabili segni di diffusione linfatica ed ematica del m. la prognosi è determinata dal grado di aggressività locale della neoplasia, che è espresso dall'infiltrazione secondo Clark, dallo spessore secondo Breslow e dall'eventuale ulcerazione;

2) quando il m. ha raggiunto i linfonodi regionali e non esistono segni di diffusione ematogena, gli elementi prognostici determinanti sono il numero di linfonodi interessati e la presenza di diffusione neoplastica al di fuori della capsula linfonodale. Le caratteristiche istomorfologiche del m. primario, invece, non sono più rilevanti a scopo prognostico;

3) i pazienti con m. ematogene costituiscono un gruppo eterogeneo in cui sono identificabili sottogruppi con diverse probabilità di sopravvivenza a lungo termine. Il criterio che consente una valutazione prospettica è la sede della diffusione metastatica. Le localizzazioni cutanee sono quelle meno aggressive, mentre quelle cerebrali conducono il paziente a morte in pochi mesi. Si pongono in posizione intermedia le metastasi polmonari ed epatiche.

## Terapia

### *Terapia chirurgica*

La chirurgia è la terapia di elezione dei m. cutanei quando la malattia non abbia superato la stazione linfonodale satellite. Essa, come già visto, può anche trovare impiego sia in fase diagnostica, quando non sia possibile raggiungere la diagnosi certa in modo diverso, sia come procedimento palliativo nel caso di localizzazioni sintomatiche a distanza. La chirurgia può inoltre essere uno strumento, più o meno complesso, capace di consentire l'applicazione di altri sistemi di terapia (quale ad es. la chemioterapia regionale).

1. *Terapia chirurgica del melanoma primitivo.* – Questo primo atto chirurgico è di fondamentale importanza e va condotto seguendo regole ben precise che, se non adeguatamente rispettate, possono compromettere seriamente la prognosi della malattia.

La tipica escissione per m. prevede un'incisione cutanea a 3-5 cm dal margine visibile della lesione. Dalla cute il piano di sezione si porta in profondità secondo una direzione obliqua all'esterno fino alla fascia muscolare sottostante che viene anch'essa asportata (fig. 7) (Cascinelli *et al.*, 1989; 1990; Ackerman e Scheiner, 1983; Balch *et al.*, 1979; Breslow e Macht, 1977; Cascinelli *et al.*, 1980; Day *et al.*, 1982; Elder *et al.*, 1983; Kenady *et al.*, 1982).

Un problema a parte è rappresentato dai m. delle dita delle mani e dei piedi, dove una disarticolazione metacarpo- o metatarsofalangea per la terza e seconda falange ovvero carpometacarpica (o tarsometatarsica) per la prima è richiesta di necessità. Con queste modalità di trattamento l'incidenza di recidive locali è molto bassa (5%). Un importante studio recentemente condotto nell'ambito del *Melanoma Programme* dell'OMS ha dimostrato comunque che m. così detti «sottili» (spessore inferiore a 2 mm) possono essere adeguatamente trattati anche con margini di sezione ad 1 cm dal bordo della lesione (Veronesi e Cascinelli, 1979; 1985; Veronesi *et al.*, 1988). Un'eventuale estensione di questo orientamento a tumori di maggiori dimensioni potrà essere forse considerata in futuro.

2. *Terapia chirurgica delle metastasi linfonodali da melanoma.* – Nella scelta di una corretta terapia delle metastasi linfonodali regionali da m., fondamentalmente due considerazioni devono essere tenute presenti: *a*) il ruolo della

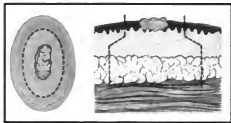



Fig. 7. Escissione chirurgica di un m. cutaneo. Il piano di sezione deve cadere ad almeno 3 cm dal margine visibile della lesione ed estendersi in profondità, al di sotto della fascia muscolare sottostante.





Digitized by Google

chirurgia nella terapia di queste localizzazioni e *b*) il momento della storia clinica della malattia in cui effettuare la linfadenectomia regionale. Per quanto concerne il primo aspetto, la linfadenectomia è indicata in seguito alla comparsa di metastasi regionali clinicamente palpabili. Su questo punto il consenso è totale, anche perché i dati relativi all'efficacia di terapie alternative sono scoraggianti. La scarsa chemiosensibilità del m. è nota ed anche la radioterapia convenzionale è stata quasi completamente abbandonata (Veronesi *et al.*, 1972).

La dissezione linfonodale deve *sempre* garantire l'asportazione di tutte le strutture linfonodali presenti in una data sede. Le asportazioni non complete, anche se apparentemente non residua tessuto neoplastico, sono totalmente da proscrivere perché non offrono adeguate probabilità di sopravvivenza del paziente.

Per quanto riguarda il secondo punto, relativo al momento in cui effettuare la dissezione linfonodale, si discute sull'opportunità di eseguire una linfadenectomia profilattica (cioè in assenza di linfonodi clinicamente palpabili) o soltanto terapeutica (cioè in presenza di adenopatie palpabili e clinicamente sospette). Le dissezioni profilattiche hanno trovato e trovano ancora oggi molti sostenitori. In effetti, a partire dall'inizio del secolo, molti sono stati gli AA. che con varie motivazioni hanno sostenuto l'opportunità degli interventi profilattici (Pack *et al.*, 1945; Gumport e Meyer, 1952; McNeer e Das Gupta, 1964; Block e Hartwell, 1961; Goldsmith *et al.*, 1970; Pringle, 1908; Wanebo *et al.*, 1975). Ma esistono in proposito opinioni nettamente differenti. L'analisi eseguita presso l'Istituto Nazionale Tumori di Milano ed in altri centri Internazionali nell'ambito del *Melanoma Programme* dell'OMS, su un campione di 553 pazienti sottoposti ad entrambi i trattamenti, dimostra chiaramente la non esistenza di una significativa differenza di sopravvivenza fra i due gruppi studiati. L'analisi, condotta esaminando differenti variabili, compreso lo spessore di infiltrazione del tumore primario, ha portato a concludere (Veronesi *et al.*, 1980; Veronesi *et al.*, 1982; Veronesi *et al.*, 1977) che la dissezione terapeutica è efficace come quella profilattica nel trattamento del m. con metastasi linfonodali quando esiste la possibilità di controlli attenti e ravvicinati del paziente. Questi dati sono stati confermati da Sim *et al.* e successivamente da Silberman (Sim *et al.*, 1978; Silberman, 1987).

Esiste un accordo unanime sulla non necessità di eseguire una dissezione immediata dei linfonodi regionali nei pazienti portatori di un m. di spessore massimo non superiore a 1,5 mm. Il dibattito è invece aperto per i m. di spessore superiore. Si tratta in questo caso di posizioni lontane e che sembrano per ora difficilmente conciliabili. In breve, chi si schiera per le linfadenectomie profilattiche sostiene: 1) che queste vadano eseguite in considerazione dell'alta incidenza di metastasi occulte linfonodali soprattutto per m. di spessore superiore a 1,5 mm (Karakousis *et al.*, 1980; Holmes *et al.*, 1977); 2) che la prognosi migliori sensibilmente eseguendo in pazienti asintomatici il trattamento profilattico (Balch *et al.*, 1979; 1981); 3) che la dissezione permetta di effettuare una stadiazione immediata e più precisa e di selezionare pazienti a prognosi peggiore, in cui associare trattamenti adiuvanti successivi. D'altro canto Veronesi *et al.* (1980) e tutti coloro che sono a favore di un trattamento differito ritengono: 1) che il 70% dei pazienti asintomatici non presenti segni microscopici di invasione neoplastica linfonodale; 2) che non tutte le metastasi linfonodali subcliniche siano destinate a progredire; 3) che la comparsa successiva di metastasi linfonodali non precluda la possibilità di eseguire una linfadenectomia; 4) che la rimozione delle stazioni linfatiche locoregionali possa favorire la comparsa di metastasi *in transit* e 5) che l'indagine condotta dal *WHO Melanoma Group* dimostri la sostanziale sovrapposizione dei risultati per i due trattamenti.

Le stazioni linfonodali di interesse chirurgico sono rappresentate dai linfonodi inguino-iliaco-otturatori per i m. degli arti inferiori e per il terzo inferiore del tronco, dai linfonodi ascellari per l'arto superiore e per le sezioni superiori del tronco e dai linfonodi laterocervicali ed intraparotidei per i m. a partenza dal distretto cervico-cefalico. Le tecniche chirurgiche adottate per queste linfadenectomie sono, a parte piccole varianti personali, ben standardizzate. Esse sono attualmente orientate a utilizzare una chirurgia funzionalmente conservativa con il massimo rispetto di strutture vascolari, nervose e muscolari, pur garantendo la completa asportazione dei linfonodi regionali (Cascinelli, 1988; 1989).

3. *Terapia chirurgica delle metastasi a distanza.* – L'aggressività biologica del m. e le sue particolari modalità di diffusione a distanza rendono quasi sempre improponibile l'uso della terapia chirurgica nel trattamento delle localizzazioni della malattia oltre la stazione linfonodale regionale. Esistono però alcune eccezioni a questa regola generale (Wons *et al.*, 1988; Karakousis *et al.*, 1985) che riguardano: 1) i casi in cui la massa metastatica si sviluppa in aree anatomiche tali da richiedere un trattamento chirurgico d'urgenza (per es. occlusioni intestinali da metastasi ileali); 2) quelle situazioni, peraltro infrequenti, in cui la metastasi a distanza rimane clinicamente unica dopo il primo rilievo obiettivo o radiologico (per es. in caso di metastasi uniche cerebrali o polmonari).

4. *Terapia chirurgica delle metastasi in transit.* – Il m. è l'unico tipo di tumore in grado di sviluppare metastasi dermiche o sottocutanee per diffusione ed impianto lungo le reti linfatiche interposte fra la sede del tumore primitivo e la stazione linfonodale regionale. Sono queste le cosiddette metastasi *in transit*.

Il trattamento di queste frequenti lesioni costituisce uno dei problemi più complessi della chirurgia oncologica. Il loro numero e la frequente presenza di micrometastasi occulte sincrone rende infatti poco proponibile un trattamento chirurgico locale. D'altro canto, trattamenti alternativi (chemioterapia sistemica, radioterapia) si sono dimostrati del tutto inefficaci nel controllo di queste evenienze cliniche.

L'unica possibilità terapeutica di un certo interesse è rappresentata dalla perfusione ipertermica in circolazione extracorporea degli arti nei quali questo tipo di metastasi comunemente si sviluppa. La perfusione in circolazione extracorporea prevede l'isolamento completo del distretto vascolare arterioso e venoso di un organo o di un'area anatomica specifica, tale da controllare completamente il flusso vascolare di quel particolare distretto che viene così reso totalmente indipendente dal circolo sistemico. Questo permette l'introduzione nell'organo perfuso di agenti farmacologici senza che questi passino, se non in minima misura, nella circolazione generale.

È resa così possibile la somministrazione di chemioterapici a dosi che consentano di raggiungere nell'area perfusa elevate concentrazioni di farmaco, mentre gli effetti tossici a distanza sono enormemente ridotti rispetto alla somministrazione sistemica dello stesso medicamento (Vaglini *et al.*, 1982; Vaglini *et al.*, 1986; Schraffordt-Koops *et al.*, 1981; Rege *et al.*, 1983; Rochlin e Smar, 1965; Sugarbaker e McBridge, 1976; Stehlin *et al.*, 1975; Krementz, 1986; Santinami *et al.*, 1989). La possibilità di raggiungere con questa tecnica concentrazioni locali di farmaco molte volte superiori rispetto a quelle raggiungibili con la somministrazione per via venosa o con la semplice infusione endoarteriosa, aumenta notevolmente i benefici teorici relativi all'indice terapeutico del chemioterapico impiegato.

La tecnica perfusionale offre inoltre un altro grosso vantaggio nel trattamento di neoplasie localizzate: l'associa-





Digitized by Google

zione della terapia antiblastica strettamente regionale alla ipertermia distrettuale.

L'uso dell'ipertermia nella terapia delle neoplasie data da lungo tempo (Cavaliere *et al.*, 1967; 1981; Storm, 1983; Hornbeek, 1984; Barlogie *et al.*, 1980; Storm *et al.*, 1980). Numerosi studi indicano che l'ipertermia applicata localmente sia molto più efficace dell'ipertermia sistemica (Dickson e Muckle, 1972; Marmon *et al.*, 1977). Un evidente sinergismo è stato inoltre dimostrato fra azione del citostatico ed aumento della temperatura locale. L'ipertermia tessutale è in grado di agire nel controllo di crescita tumorale attraverso alterazioni del mierocircolo e modificazioni metaboliche dei tessuti interessati (Emami e Song, 1983; Storm *et al.*, 1979; Gerwck, 1985; Emami *et al.*, 1980; Bicher *et al.*, 1980; Eddy, 1980; Song *et al.*, 1980; Lefor *et al.*, 1985). I risultati elinici ottenuti grazie a questa tecniea sono più che incoraggianti e sono allo studio attualmente nuove applicazioni della terapia di tipo bio-immunologico.

*Terapia radiante*

Benché la terapia radiante del m. sia stata in larga misura abbandonata, merita di essere menzionata una sua specifica applicazione, basata sull'impiego di particelle pesanti, la quale sembrerebbe produrre risultati di notevole interesse. Si tratta della protonoterapia del m. oculare (300 nuovi casi ogni anno nella sola Francia), efficace, secondo alcuni studi, nella quasi totalità dei casi trattati (99%).

*Terapia medica*

Nel trattamento del m. sono attualmente adottati numerosi schemi di mono- o polichemioterapia sistemica terapeutica o adiuvante. Nel tentativo di individuare nuovi agenti attivi sul m. sono stati sperimentati, di recente, molti farmaci antiproliferativi (Luce, 1975). La maggior parte dei preparati è apparsa però poco efficace e non ha pertanto trovato stabile applieazione clinica in monochemioterapia (tab. 1).

La dacarbazina (DTIC) rimane a tutt'oggi il farmaco più attivo, utilizzato nella monochemioterapia del m. metastatico. La sua efficacia è da considerarsi attualmente ampiamente documentata (Pritchard *et al.*, 1980; Wagner *et al.*, 1971). Dati cumulativi provenienti da numerosi studi clinici hanno dimostrato che il DTIC è infatti in grado di ottenere risposte obiettive nel 22% dei casi. Il farmaco è stato impiegato a dosaggi variabili e secondo differenti modalità di somministrazione, ottenendo peraltro risposte terapeutiche sovrapponibili. Lo schema più diffuso è quello che prevede la dose di 250 $mg/m^2$ e.v. dal primo al quinto giorno, con cicli ripetuti ogni 21 giorni. In alternativa è possibile utilizzare il DTIC alla dose di 800 $mg/m^2$ e.v. in dose uniea ogni 3 settimane. Occorre precisare che la maggior parte delle risposte terapeutiche è costituita da remissioni parziali della neoplasia di breve durata e ehe solo nel 4% dei casi si osservano remissioni complete (Gill *et al.*, 1984).

Nel tentativo di migliorare i risultati ottenuti con la monochemioterapia sono stati proposti numerosi schemi di associazione (Cascinelli *et al.*, 1988).

La maggior parte dei regimi di polichemioterapia non ha peraltro dato i risultati sperati, non avendo ottenuto risposte migliori di quelle indotte dal solo DTIC (non superiori mediamente al 20%).

La terapia adiuvante è stata studiata ampiamente nel tentativo di migliorare la prognosi dei sottogruppi dei pazienti ad alto rischio di recidiva dopo chirurgia. I trattamenti mono- o polichemioterapici adiuvanti per le fasi più avanzate non hanno dimostrato benefiei significativi rispetto ai pazienti trattati con la sola chirurgia e pertanto sono stati in gran parte abbandonati (Banzet, 1979). Le sporadiche segnalazioni positive sono basate su studi spesso non randomizzati e su piccoli campioni. Egualmente non soddisfacenti sono i risultati di uno studio randomizzato effettuato dal *WHO Melanoma Programme* utilizzando polinueleotidi sintetici (*Poly A*, *Poly U*) come agenti immunostimolanti complementari dopo chirurgia radicale in pazienti operati per metastasi linfonodali regionali.

In considerazione della particolare immunogenicità del m. è attualmente in corso nell'ambito del *WHO Melanoma Programme* uno studio randomizzato per valutare l'efficacia dell'interferone nel trattamento adiuvante dopo dissezione linfonodale radicale.

Negli anni passati è stato condotto, con risultati non sempre convincenti, un gran numero di studi clinici nel campo dell'immunodiagnostiea e dell'immunoterapia del m. Uno dei grossi limiti di queste sperimentazioni è stato l'uso di preparati o molecole con caratteristiche chimiche e modalità di azione non perfettamente definite (BCG, *Corynebacterium parvum*, levamisolo, etc.) (Gutterman *et al.*, 1973; Veronesi *et al.*, 1982; Banzet *et al.*, 1979; Quagliana *et al.*, 1980). La stessa associazione fra immunoterapia e chemioterapia non ha prodotto risultati significativi.

**TAB. I. FARMACI E RISPOSTE OTTENUTE IN MONOCHEMIOTERAPIA NEL TRATTAMENTO DEL MELANOMA METASTATICO**

(dati degli AA.)

| Farmaci | n. pazienti | % risposte obiettive |
|---|---|---|
| *Alchilanti* | | |
| Mecloretamina | 45 | 7 |
| Ciclofosfamide | 55 | 16 |
| Melphalan | 52 | 15 |
| Clorambucil | 22 | 9 |
| Ifosfamide | 37 | 11 |
| *Antimetaboliti* | | |
| 6-Mercaptopurina | 47 | 4 |
| 5-Fluoruracile | 43 | 2 |
| Methotrexate | 25 | 8 |
| Citosina-Arabinoside | 52 | 2 |
| *Antibiotici* | | |
| Epirubicina | 65 | 6 |
| Mitomicina | 26 | 3 |
| *Miscellanea* | | |
| Idrossiurea | 200 | 12 |
| Mitoxantrone | 65 | 0 |
| m-AMSA | 39 | 0 |
| Cisplatino | 77 | 9 |
| *Alcaloidi della Vinca* | | |
| Vincristina | 52 | 12 |
| Vinblastina | 71 | 15 |
| Vindesina | 231 | 16 |
| *Nitrosouree* | | |
| BCNU | 122 | 18 |
| CCNU | 257 | 12 |
| Metil-CCNU | 314 | 14 |
| Clorozotocina | 161 | 10 |



Digitized by Google

Qualche risultato interessante è stato invece ottenuto, nel trattamento delle metastasi a distanza, con interferone ad alte dosi, ma per tempi comunque limitati (Legha, 1986).

Un notevole passo avanti, almeno da un punto di vista metodologico, è stato compiuto negli anni '80 con l'introduzione in campo clinico dell'*immunoterapia adottiva* basata su linfociti citotossici autologhi attivabili *in vitro* ed *in vivo* da specifici fattori di crescita (interleuchina 2: IL-2) oggi prodotti con tecniche di ricombinazione genetica (rIL-2). Questa tecnica di immunoterapia adottiva, che permette di ottenere una notevole espansione clonale *in vitro* dei linfociti autologhi del paziente, così da reinfondere poi nello stesso paziente un altissimo numero di cellule, ha prodotto risposte obiettive in un buon numero di pazienti con differenti tipi di tumori solidi, compreso il m. cutaneo avanzato (Lotze *et al.*, 1986; Rosenberg *et al.*, 1985; 1987, 1988; West *et al.*, 1987; Cascinelli *et al.*, 1989).

Questi trattamenti prevedono il prelievo di linfociti citotossici autologhi in grado di lisare le cellule tumorali del paziente, la loro coltivazione ed espansione *in vitro* mediante IL-2 e la successiva reinfusione allo stesso paziente nei giorni successivi.

Attualmente esistono 2 possibilità di estrazione linfocitaria rappresentate da: 1) prelievo dal sangue periferico dopo opportuna stimolazione *in vivo* con IL-2 per ottenere la massima raccolta cellulare. Queste cellule vengono definite LAK (*Lymphokine Activated Killer cells*); 2) prelievo mediante estrazione diretta dalla massa tumorale di linfociti citotossici in essa contenuti e definiti TIL (*Tumor Infiltrating Lymphocytes*). Questi sono considerati molto più specifici ed attivi rispetto alle LAK (Rosenberg *et al.*, 1986; 1988; Topalian *et al.*, 1988). Dopo un'opportuna espansione *in vitro* con IL-2 anche questi vengono reinfusi nel paziente da cui la massa neoplastica era stata prelevata. I risultati preliminari di queste nuove modalità di trattamento, pur essendo molto interessanti sul piano teorico, hanno dato risultati difficilmente interpretabili sul piano clinico. Una recente variante di tale tecnica, per ora limitata a pochi casi sperimentali e quindi di significato terapeutico ancora incerto, è basata sull'impiego di TIL potenziati, cioè di linfociti TIL nei quali è stato effettuato — con tecniche di ingegneria molecolare — un «trapianto» di geni di origine murina codificanti per le sintesi del fattore di necrosi tumorale (TNF).

**Bibliografia**


Ackerman A., Scheiner A. M., *Hum. Pathol.*, 1983, **14**, 743.

Anders F., Gronau T., Scheil R., *Cellular oncogenes as ubiquitous fenotic costruents in animal*, in Veronesi U., Cascinelli N., Santinami M. eds., *Cutaneous Melanoma*, 1987, Academic Press, New York, pp. 351-371.

Balch C. M., Murad T. M. *et al.*, *Cancer*, 1979, **43**, 884.

Balch C. M., Soong G. *et al.*, *Ann. Surg.*, 1981, **193**, **3**, 377-388.

Bale S. J., Greene M. H., Murray C., Goldin L. R. *et al.*, *Int. J. Cancer.*, 1985, **36**, 439.

Banzet P., Jacquillat C., Maral J., *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, 1979, **20**, 333.

Barlogie B., Corry P. M., Yip E. *et al.*, *Cancer Res.*, 1980, **40**, 265.

Beardmore G. L., *The Epidemiology of Malignant Melanoma in Australia*, in McCarthy W. H. ed., *Melanoma and Skin Cancer*, 1972, Australian Cancer Society, Sydney, p. 39.

Bicher H. I., Hetzel F. W., Sandhu T. S. *et al.*, *Radiology*, 1980, **137**, 795.

Block G. E., Hartwell S. W. jr., *Ann. Surg.*, 1961, **154**, 74-101.

Breslow A., *Ann. Surg.*, 1970, **172**, 902.

Breslow A., Machi S. D., *Surg. Gynec. Obstet.*, 1977, **145**, 691.

Buraggi G. L., Callegaro L., Mariani G. *et al.*, *Cancer Res.*, 1985, **45**, 3378-87.

Buraggi G. L., Turrin A., Cascinelli N. *et al.*, *Int. J. Biol. Rad.*, 1986, **1**, 47.

Callery C., Cochran A. *et al.*, *Ann. Surg.*, 1982, **196**, 69.

Cascinelli N., van der Esch E. P., Breslow A., Morabito A., Bufalino R., *Eur. J. Cancer*, 1980, **16**, 1079.

Cascinelli N., Morabito A., Bufalino R., van der Esch E. P. *et al.*, *Int. J. Cancer*, 1980, **26**, 733.

Cascinelli N., Vaglini M. *et al.*, *J. Surg. Onc.*, 1984, **25**, 240.

Cascinelli N., Belli F., Leo E., Vaglini M., WHO Melanoma Programme - ESO, European School of Oncology. *Le dissezioni linfonodali nel melanoma cutaneo*, 1988, Videotape. Produced by Videotech s.a.s.

Cascinelli N., Belli F., Testori A., Bajetta E., *Archivio ed Atti della Società Italiana di Chirurgia* (Novantesimo Congresso - Roma, 23-27 ottobre 1988), Pozzi, Roma.

Cascinelli N., Belli F., Vaglini M., Logo G. F., *I tumori cutanei*, in Veronesi U., *Trattato di Chirurgia Oncologica*, 1989, UTET, Torino, 771-810.

Cascinelli N., Belli F., Marchini S. *et al.*, *Tumori*, 1989, **75**, 233-244.

Cascinelli N., Santinami M., Testori A., Belli F., *Res. Cancer Treat.*, 1990, **3**, 57-67.

Cavaliere R., Ciocatto E. C., Giovannella B. C. *et al.*, *Cancer*, 1967, **20**, 1352.

Cavaliere R., Mondovì B., Moricca G., Monticelli G. *et al.*, *Trattamento ipertermico dei tumori; basi biochimiche, applicazioni sperimentali, risultati clinici*, in *L'ipertermia in terapia oncologica*, 1981, Piccin, Padova, pp. 187-247.

Clark W. H. jr. *et al.*, *Cancer Res.*, 1969, **29**, 705-727.

Cohen M. M., Ketcham A. S. *et al.*, *Ann. Surg.*, 1977, **186**, 635.

Day C. L. jr., Sober A. *et al.*, *Cancer*, 1981, **47**, 955.

Day C. L. jr., Mihm M. C., Sober A. J., Fitzpatrick T. B., Malt R. A., *N. Engl. J. Med.*, 1982, **306**, 479.

Dickson Y. A., Muckle D. S., *Cancer Res.*, 1972, **32**, 1916.

Duggleby W. F., Stoll H., Priore R., *Am. J. Epidemiol.*, 1981, **114**, 63-72.

Eddy H. A., *Radiology*, 1980, **137**, 515.

Elder D. E., Guerry D. IV, Heiberger R. M., La Rossa D., Goldman L. I. *et al.*, *Plast. Reconstr. Surg.*, 1983, **71**, 66.

Emami B., Nussbaum G. H., TenHaken R. K. *et al.*, *Radiology*, 1980, **137**, 805.

Emami B., Song C. W., *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1983, **10**, 289.

Fawwaz R. A., Wang T. S., Estabrook A. *et al.*, *J. Nucl. Med.*, 1985, **26**, 488.

Gerwek L. E., *Cancer Res.*, 1985, **45**, 3408.

Ghidoni A., Privitera E., Raimondi E. *et al.*, *Cancer Genet. Cytogenet.*, 1983, **9**, 347.

Gill G. J., Krementz E. T., Hill H. Z., *Cancer*, 1984, **53**, 1299.

Goldsmith H. S. *et al.*, *Cancer*, 1970, **26**, 606.

Green A., *Austr. J. Derm.*, 1982, 23, 105.

Greene M. H., Fraumeni J. F. jr., *The Hereditary Variant of Malignant Melanoma*, in Clark W. H. jr., Goldman L. I., Mastrangelo M. J. eds., *Human Malignant Melanoma*, 1979, Grune & Stratton, New York, pp. 139-166.

Gumport S. L., Meyer H. W., *Ann. Surg.*, 1952, **150**, 989.

Gutterman J. U., McBridge C., Freireich E. J. *et al.*, *Lancet*, 1973, **1**, 1208-1212.

Hellstrom K. E., Hellstrom I., Brown J. P., *Springer Semin. Immunol.*, 1982, **5**, 127-46.

Hellstrom K. E., Hellstrom I., Brown J. P., *Monoclonalantibodies to Melanoma-associated Antigens*, in Wright G. L. ed., *Monoclonal Antibodies and Cancer*, 1984, Marcel Dekker Inc., New York, pp. 31-47.

Holmes E., Moseley H. *et al.*, *Ann. Surg.*, 1977, **186**, 481-489.

Hornbeck N. B., *Hyperthermia and Cancer; Human Clinical Experiences*, vol. 2, 1984. CRC Press, Boca Raton, Fla.

Hors J., Demenais F., Cesarini J. P. *et al.*, *HLA and Familial Malignant Melanoma*, in Albert E. D., Baur M. P., Mayr W. R. eds., *Histocompatibility Testing 1984*, 1984, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp. 407-410.

Karakousis C., Seddiq M., Moore R., *Arch. Surg.*, 1980, **115**, 719.

Karakousis C. P., Moore R. *et al.*, *Cancer*, 1985, **56**, 1222-1230.

Kenady D. E., Brown B. W., McBride C. M., *Surgery*, 1982, **92**, 615.

Koh H. K., *N. Engl. J. Med.*, 1991, **325**, 171.

Krementz E. T., *Cancer*, 1986, **57**, 416-432.

Lancaster H. O., *Medical J. Australia*, 1956, **1**, 1082.

Larson S. M., Brown J. P., Wright P. W., Carrasquillo Y. A., Hellstrom I., *J. Nucl. Med.*, 1983, **24**, 123.

Lee Y. N., *Ann. Surg.*, 1980, **191**, n. 1, 87-97.

Lee J. A. H., *Melanoma and Exposure to Sunlight Epidemiologic Reviews*, The Hopkins University School of Hygiene and Public Health, 1982, **4**, 110-134.

Lefor A. T., Makohon S., Ackerman N. B., *J. Surg. Oncol.*, 1985, **28**, 297.

Legha S. S., *Cancer*, 1986, **7**, 1675.

Lotze M. T., Chang A. E., Seipp C. A. *et al.*, *J. Am. Med. Ass.*, 1986, **256**, 3117.

Luce J. K., *Semin. Oncol.*, 1975, **2**, 179-185.

Marmon J.B., Hahn N., Hahn G. M., *Cancer Res.*, 1977, **37**, 979.

McNeer G., Das Gupta T., *Surg.*, 1964, **56**, 512.

Murray G. L., Rosenblum M. G., Sobol R. E. *et al.*, *Cancer Res.*, 1985, **45**, 2376.

Pack G. T. *et al.*, *Surg.*, 1945, **17**, 849.

Pringle J. H., *Edinburgh M. J.*, 1908, **23**, 496.

Pritchard K. I., Quirt I. C., Cowan D. H., *Cancer Treat. Rep.*, 1980, **64**, 1123.






Digitized by Google

Quagliana J., Tranum B., Neidhardt J. *et al.*, *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, 1980, **21**, 399.
Rege V. B., Leone L. A., Soderberg C. H. jr., Coleman G. V. *et al.*, *Cancer*, 1983, **52**, 2033.
Rochlin D. B., Smar C. R., *Cancer*, 1965, **18**, 1544-1550.
Rosenberg S. A., Tauer K. W., Yannelli J. R. *et al.*, *J. Nat. Cancer Inst.*, 1985, **75**, 595-603.
Rosenberg S. A., Speiss P., Lafreniere R., *Science*, 1986, **233**, 1318.
Rosenberg S. A., Lotze M. T., Muul L. M. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1987, **316**, 889-897.
Rosenberg S. A., Packard B. S., Aebersold P. M. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1988, **319**, 1676.
Rosenberg S. A., *J. Clin. Oncol.*, 1988, **6**, 403.
Rovini D., Pellegris G., Cascinelli N. *et al.*, *Tumori*, 1988, **74**, 651.
Santinami M., Belli F., Cascinelli N., Rovini D., Vaglini M., *J. Surg. Oncol.*, 1989, **42**, 201.
Schraffordt-Koops H., Eibergen R., Oldhoff J., Oosterhuis J. W. *et al.*, *Cancer*, 1981, **48**, 1952-1961.
Silberman A. W., *Ann. Surg.*, 1987, **206**, 206.
Sim F., Taylor W. *et al.*, *Cancer*, 1978, **41**, 948.
Song C. W., Kang M. S., Rhee J. G. *et al.*, *Radiology*, 1980, **137**, 795.
Song C. W., Kang M. S., Rhee J. G. *et al.*, *Cancer*, 1980, **41**, 309.
Sozzi G., Miozzo M. *et al.*, *Cancer Genet. Cytogenet.*, 1990, **44**, 61.
Stehlin S., Giovannella B. C., De Ipolyi D., Muenz L. R. *et al.*, *Surg. Gynecol. Obstet.*, 1975, **140**, 339-348.
Storm F. K., Harrison W. H., Elliot R. S. *et al.*, *Cancer Res.*, 1979, **39**, 2245.
Storm F. K., Harrison W. H., Elliot R. S. *et al.*, *Cancer*, 1980, **46**, 1848.
Storm F. K., *Hyperthermia in Cancer Therapy*, 1983, GK Hall & Co., Boston.
Sugarbaker E. V., McBridge C. M., *Cancer*, 1976, **37**, 188-198.
Topalian S. L., Solomon D., Avis F. P. *et al.*, *J. Clin. Oncol.*, 1988, **6**, 839-853.
Trent S. M., Thompson F. M., Meyskens F. L., *Cancer Res.*, 1989, **49**, 420.
Trent J. M., Stanbrige F. J. *et al.*, *Science*, 1990, **247**, 560-571.
Urist M., Maddox U. *et al.*, *Cancer*, 1983, **51**, 2152.
Vaglini M., Rovini D., Prada A., Nava M. *et al.*, *Arg. Oncol.*, 1982, **3**, 329-337.
Vaglini M., Santinami M., Nava M., Belli F. *et al.*, *Extra-corporeal Technol.*, 1986, **18**, 12-20.
Veronesi U., Cascinelli N., Balzarini G. P., Preda F., *Treatment of Regional Node Metastates*, in Blight U., *Melanoma and Skin Cancer*, 1972, Government printer, New South Wales, 417-423.
Veronesi U., Adamus J. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1977, **292**, 627.
Veronesi U., Cascinelli N., *World J. Surg.*, 1979, **3**, 279-288.
Veronesi U., Adamus J. *et al.*, *Tumori*, 1980, **66**, 373-396.
Veronesi U., Adamus J. *et al.*, *Cancer*, 1982, **49**, 2420-2430.
Veronesi U., Adamus J. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1982, **307**, 913.
Veronesi U., Cascinelli N., *Am. J. Dermapathol.*, 1985, Suppl. 7, 123.
Veronesi U., Cascinelli N., Adamus J., Balch C. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1988, **318**, 1159.
Wagner D. E., Ramirez G., Weiss A. J., *Oncology*, 1971, **26**, 310.
Wallace D. C., Beardmore G. L., Exton L. A., *Familial Malignant Melanoma*, *Ann. Surg.*, 1983, **17**, 15.
Wanebo M. J. *et al.*, *Cancer*, 1975, **35**, 666-676.
Wanebo H. J. *et al.*, *Ann. Surg.*, 1975, **182**, 302-314.
West W. H., Tauer K. W., Yannelli J. R. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1987, **316**, 898.
WHO, *Cancer incidence in five continents*. Vol. IV, IARC Scientific Publications n. 42, in Waterhouse J., Shanmugaratnam K., Muir C., Powell J. eds., 1982, International Agency for Research on Cancer, Lyon.
Williams Pickle L., Mason T. J., Howard N., Hoover R., Fraumeni G. F. jr., *Atlas of US Cancer Mortality Among Whites: 1950 through 1980*, 1985, US Government Printing Office, Washington, DC.
Wons J. A., Eumus D. R., Morton D. L., *Arch. Surg.*, 1988, **123**, 1091.

NATALE CASCINELLI E FILIBERTO BELLI

## MEMBRANE BIOLOGICHE [v. vol. IX, col.770]

SOMMARIO



I progressi fatti negli ultimi anni nello studio delle membrane cellulari riguardano soprattutto il rapporto struttura-funzione nei fenomeni di trasporto e nella trasduzione dei segnali. Ciò ha consentito di chiarire anche la natura di alcune patologie connesse con tali fenomeni.

### Composizione e struttura

*Ancoraggio delle proteine*

Il modello di membrana oggi accettato è quello a mosaico fluido di Singer e Nicholson (1972): un foglietto lipidico bimolecolare fluido al quale sono legate, tramite interazioni idrofobiche, le proteine responsabili delle funzioni di membrana (fig. 1, *a*). Si è visto però che tale legame può avvenire anche tramite una coda ricca in aminoacidi idrofobici (fig. 1, *b*) o un acido grasso legato covalentemente alla proteina (fig. 1, *c*). In altri casi due regioni idrofile situate su facce opposte della membrana sono collegate da una catena proteica idrofobica (fig. 1, *d*). L'ancoraggio di molte proteine può essere infine mediato da un glicosil-fosfatidilinositolo legato covalentemente alla proteina stessa (fig. 1, *e*). I diversi ancoraggi hanno certamente un significato biologico, non ancora ben noto. Il legame a fosfatidilinositolo, per es., può servire per un rapido rilascio della proteina o come precursore di un *secondo messaggero*, come pare avvenga (Low e Saltiel, 1988) nel caso della azione dell'insulina (v.: VII, 2073-2076).

*Scheletro della membrana*

Nel globulo rosso si osserva una rete di filamenti di *spectrina* che costituisce uno scheletro legato alla membrana, resistente alla dissoluzione dei lipidi con un tensioattivo. I filamenti di spectrina sono costituiti da due catene, α e β, che si uniscono testa a testa formando un tetramero $\alpha_2\beta_2$, le cui estremità si legano a corti filamenti di *actina F* e a una proteina globulare, formando il cosiddetto *complesso giunzionale*. Questo, a sua volta, si ancora alla membrana lipidica tramite due *sialoglicoproteine* (SGP), il tutto associato a un canale per anioni, la «banda 3» elettroforetica delle proteine di membrana. I filamenti di spectrina sono, a loro volta, legati ad altre proteine della banda 3 tramite una proteina specifica, l'*ankirina*. (Bennett, 1985; Liu *et al.*, 1987). Questo scheletro, una vera e propria rete di supporto, assicura alle emazie la necessaria resistenza e flessibilità e sue modificazioni sono associate a varie patologie.

Proteine dello scheletro del globulo rosso sono state trovate in cellule di organi molto diversi (cervello, fegato, intestino, sinapsi e nodi di Ranvier). Può quindi essere una struttura di questo tipo a mediare il collegamento fra mem-

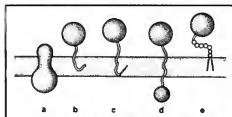



Fig. 1. Diverse possibilità di ancoraggio delle proteine al foglietto lipidico: *a*) interazione idrofobica, *b*) coda con aminoacidi idrofobici, *c*) coda con acido grasso, *d*) mediante collegamento con catena proteica idrofobica; *e*) tramite glicosil-fosfatidilinositolo. (*Da Low, 1987, modificata e ridisegnata*).





Digitized by Google

brana e citoscheletro osservato in molti fenomeni (motilità, adesione a superfici, movimento di organelli, organizzazione delle proteine di membrana).

**Struttura e funzione**

*Ambiente lipidico e trasporto*

Il foglietto lipidico è composto da decine di lipidi differenti, la cui disposizione spaziale non è casuale. È confermato che i due emifoglietti sono diversi (Storch e Kleinfeld, 1985) e che la loro composizione influenza il comportamento delle proteine di membrana. Nel sistema di trasporto degli zuccheri del globulo rosso, l'attività dipende dallo spessore del foglietto, dalle sue transizioni di fase, dalla testa polare dei lipidi e dalle loro code idrofobiche (Carruthers e Melchior, 1984). Gli effetti del colesterolo sono collegabili con la sua azione sull'organizzazione dei lipidi (Connolly *et al.*, 1985b). Particolarmente importante l'interazione, vistosa nei canali ionici, dei lipidi con le α-eliche che attraversano il foglietto.

*Diffusione laterale delle proteine*

La fluidità della membrana pare essenziale per le sue funzioni, ma poco si sa in proposito (Mc Closkey e Poo, 1984), per es. come si mantenga l'organizzazione a lungo raggio e se vi sia omogeneità a corto raggio (meno di 0,1 μm) dei lipidi. Le proteine di membrana hanno un coefficiente di diffusione da $10^3$ a $10^5$ volte inferiore a quello in soluzione acquosa e da 10 a 100 volte minore di quello entro i foglietti lipidici. Nel caso del globulo rosso e di alcune cellule epiteliali la diffusione è limitata da interazioni con il citoscheletro (Salas *et al.*, 1988). In altri casi può avere un ruolo anche l'eterogeneità del foglietto lipidico. La mobilità laterale delle proteine è importante per la formazione e il mantenimento di strutture (citoscheletro, *tight junctions*, etc.), per l'efficienza delle reazioni di legame a recettori o di trasporto di elettroni, trasduzione di segnali attraverso la membrana, trasferimento di informazioni lungo la superficie di questa e autoassemblaggio di strutture temporanee (fagocitosi, eso- endocitosi).

*Canali ionici*

Fin dai primi studi moderni sui fenomeni bioelettrici (v. BIOELETTRICITÀ, II, 2250) risultava evidente il ruolo fondamentale della selettività della membrana plasmatica nei confronti degli ioni. Dato che questi non potevano attraversare direttamente la membrana lipidica, dovevano venire trasportati da molecole liposolubili (*carrier*) o migrare lungo canali acquosi proteici, vie di trasporto distinguibili cineticamente.

I primi tentativi di caratterizzazione dei canali si fondavano sull'isolamento e la ricostituzione in membrane artificiali (Montal e Mueller, 1972; Wills e Zweifach, 1987). A questa tecnica si è aggiunta l'analisi del rumore della *corrente di clamp*, prodotta imponendo una differenza di potenziale elettrico, dovuto alle fluttuazioni nello stato di apertura (*gating*) dei canali (Neher e Stevens 1977; Hagiwara, 1983). Progressi fondamentali ha consentito la tecnica di *patch clamp* (Neher e Sackmann, 1976), che consente lo studio di singoli canali, in frammenti di membrana o liposomi (fig. 2). Sono stati identificati canali per cationi e anioni, in cellule eccitabili e non e nei mitocondri. I canali esistono in più stati, controllati dalla differenza di potenziale (ddp) applicata (variazioni di 10 mV della ddp di una membrana spessa 10 nm producono variazioni del campo elettrico di $10^6$ V/m, in grado di alterare la configurazione di una proteina), da ioni, trasmettitori, farmaci, stimoli osmotici e meccanici.

La sequenza di aminoacidi delle proteine di vari canali, primo passo per la determinazione della struttura tridimensionale, è stata trovata con metodi di frammentazione o decodificando il codice genetico. L'ingegneria genetica (v.; v.*) consente poi di sostituire singoli aminoacidi o zone intere della proteina (Catterall, 1988b; Noren *et al.*, 1989), chiarendo il rapporto struttura-funzione. Sono state determinate mappe di densità elettronica di alcuni canali e se ne è fotografato qualcuno in microscopia elettronica, ma non è nota la struttura a grande risoluzione di nessun canale. È comunque certo che questi sono costituiti da più subunità, ognuna comprendente varie α-eliche che attraversano la membrana, formando il canale, unite da pieghe sporgenti

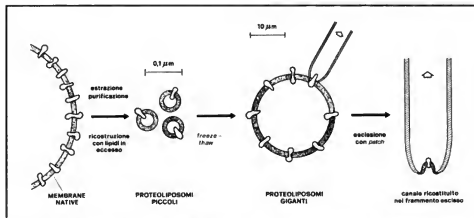



Fig. 2. *Patch clamp* in liposomi con canali ricostituiti. La micropipetta riesce a staccare un frammento della membrana liposomale con un solo canale. (*Da Tank et al., 1982, modificata e ridisegnata*).



Digitized by Google

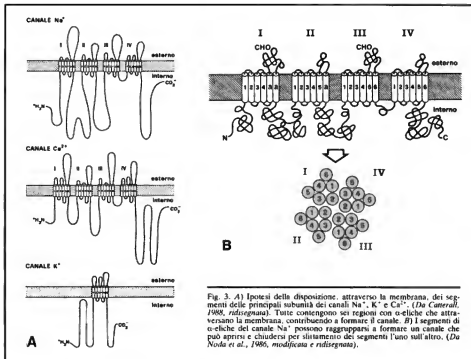



Fig. 3. *A*) Ipotesi della disposizione, attraverso la membrana, dei segmenti delle principali subunità dei canali $Na^+$, $K^+$ e $Ca^{2+}$. (*Da Catterall, 1988, ridisegnata*). Tutte contengono sei regioni con α-eliche che attraversano la membrana, contribuendo a formare il canale. *B*) I segmenti di α-eliche del canale $Na^+$ possono raggrupparsi a formare un canale che può aprirsi e chiudersi per slittamento dei segmenti l'uno sull'altro. (*Da Noda et al., 1986, modificata e ridisegnata*).

all'esterno e all'interno della membrana, con funzioni di riconoscimento, legame e trasduzione (fig. 3, *A* e *B*).

Fra i vari tipi di canali vanno annoverati quelli associati al cotrasporto o antitrasporto di sostanze. Ubiquitario, ad es., è l'antitrasportatore $Na^+/H^+$, implicato nella regolazione del volume e del pH cellulari. Si tratta di sistemi complessi, che possono associare, in canali accoppiati, lo scambio di varie specie chimiche.

*ATPasi di membrana*

Alla membrana sono associate molte ATPasi, con funzioni non tutte note. Particolarmente importanti i canali accoppiati ad attività ATPasica in grado di utilizzare l'energia di idrolisi dell'ATP per l'apertura di un canale e il trasporto anche contro gradiente elettrochimico. Le più note sono le ATPasi $Na^+/K^+$ e $K^+/H^+$ della membrana plasmatica, le ATPasi $Ca^{2+}$ della membrana plasmatica e del reticolo sarcoplasmatico, le ATPasi $H^+$. Le ultime hanno funzione di solo trasporto nella membrana plasmatica, di trasporto e sintesi (o idrolisi) di ATP nei mitocondri, batteri, cloroplasti. Tale differenza si riflette nella loro struttura. Le ATPasi di tipo mitocondriale si presentano, infatti, con due raggruppamenti di numerose subunità, denominati $F_0$ e $F_1$. Il primo è coinvolto nella traslocazione dei protoni, mentre il secondo è l'unità di sintesi o di idrolisi dell'ATP, a seconda del verso in cui gira il meccanismo. Le ATPasi $H^+$ di membrana sono costituite, invece, da un solo complesso, circa 4 volte più piccolo del sistema $F_1$.

Meno note le altre ATPasi. Quella $Na^+/K^+$ è una glicoproteina organizzata in un protomero con due subunità α e β, la più piccola struttura in grado di mostrare attività enzimatica. Nel corso della transizione conformazionale indotta dall'ATP nel diprotomero $(\alpha\beta)_2$ è stato osservato uno spostamento di cariche in concomitanza con la corrente di pompaggio (Zampighi *et al.*, 1984, Sturmer *et al.*, 1989). Ciò potrebbe produrre un'inversione locale di potenziale elettrochimico e quindi trasporto contro gradiente.

*Trasduzione dei segnali*

Lo schema generale di un sistema di trasduzione di un segnale chimico o elettrico che giunge alla membrana è indi-

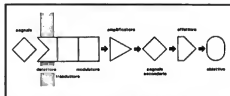



Fig. 4. Schema generale di trasduzione di un segnale.

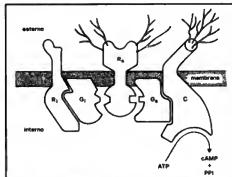



Fig. 5. Complesso dell'adenilciclasi. $R_i$ e $R_s$) recettori inibitore e stimolatore; $G_i$ e $G_s$) proteine con attività GTPasica; C) adenilciclasi. (*Da Levitzki, 1986, modificata e ridisegnata*).

cato in fig. 4. I vari stadi del processo possono avvenire all'interno di un unico complesso proteico, come nel *voltage gating* dei canali, o richiedere l'intervento di un numero variabile di enzimi e trasmettitori, ma sono sempre riconoscibili, in linea di principio, in qualsiasi sistema di regolazione analogica.

Tipico il sistema dell'accoppiamento dei recettori β-adrenergici all'adenileiclasi (fig. 5), la cui struttura primaria rassomiglia a quella dei canali ionici. I recettori, stimolatori e inibitori, fungono da detettore e trasduttore del segnale ormonale, che viene poi modulato e amplificato dall'adenilciclasi e dalle proteine $G_i$ e $G_s$, con attività GTPasica, che lo collegano ai recettori. Il secondo messaggero può poi raggiungere l'effettore (v. anche: ORMONI, X, 1923-1929). Oltre all'AMP ciclico, hanno certamente funzione di secondo messaggero gli ioni $Ca^{2+}$ (v. CALCIO*, 1184) e, almeno per alcuni canali ionici, l'ATP. Ma la batteria di secondi messaggeri pare doversi ampliare.

**Strutture complesse**

I vari tessuti richiedono la presenza sulla membrana di glicoproteine che promuovono l'adesione cellulare (*cell adhesion molecules*, CAM). Sono state isolate svariate CAM, specifiche per i vari tessuti. Lo sviluppo embrionale è pilotato dall'espressione di vari tipi di CAM nei diversi tipi di cellule. Alcune di esse, le *caderine*, richiedono la presenza di calcio. Nell'adulto le caderine di diversi tessuti possono differire fra di loro più delle molecole di tessuti omologhi in specie filogeneticamente molto diverse.

Negli epiteli sono note svariate giunzioni intercellulari, fra le quali le *giunzioni occludenti* sono le più importanti per il trasporto, in particolare di acqua. Sono costituite da più fili di saldatura (fig. 6), il cui numero determina la permeabilità della giunzione. Tali giunzioni presentano una certa selettività per gli ioni, che pare regolata dall'AMPc.

**Aspetti patologici**

Continua a crescere l'interesse per l'alterazione delle funzioni di membrana nelle più svariate patologie, in partico-

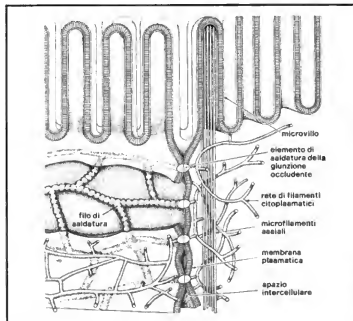



Fig. 6. Schema di giunzione occludente in un epitelio di assorbimento. Gli elementi di saldatura sono collegati a una rete di filamenti citoplasmatici di rinforzo. (*Da Staehelin e Hull, 1978, modificata e ridisegnata*).





Digitized by Google

lare nelle malattie muscolari, nel morbo di Alzheimer, per quanto riguarda l'azione degli oncogèni e dei fattori di crescita o il ruolo delle CAM nella patogenesi dell'asma e nel melanoma. Il risultato recente più completo e importante si è però avuto con l'isolamento del gene della *fibrosi cistica* (v. MUCOVISCIDOSI, IX, 2100; MUCOVISCIDOSI*).

La decodificazione del gene ha consentito di determinare la sequenza di aminoacidi della proteina espressa e di ipotizzarne la struttura (Riordan *et al.*, 1989). Essa ha le caratteristiche di un canale ionico (*cistic fibrosis transmembrane conductance regulator*, CFTR), quasi certamente un canale per il cloro. La proteina CFTR ha una tipica serie di α-eliche idrofobiche che costituiscono il canale e tre masse dalla parte del citoplasma, due delle quali mostrano la sequenza tipica di siti di legame dell'ATP (*nucleotide binding fold*, NBF). Nel 68% dei casi studiati una delle zone NBF manca di una fenilalanina e non è più in grado di legare l'ATP. La proteina, quindi, presenta una diminuita permeabilità per gli ioni cloro.

**Bibliografia**


Bennett V., *Ann. Rev. Biochem.*, 1985, **54**, 273-304.
Carruthers A., Melchior D. L., *Biochemistry*, 1984, **23**, 6901-6911.
Catterall W. A., *Ann. Rev. Physiol*, 1988a, **50**, 395-406.
Catterall W. A., *Science*, 1988b, **242**, 50-61.
Connolly T. J., Carruthers A., Melchior D. L., *Biochemistry*, 1985b, **260**, 2617-2620.
Delaunay J., Boivin P., *La Recherche*, 1990, **21**, 845-852.
Hagiwara S., *Membrane Potential Dependent Ion Channels in Cell Membrane*, 1983, Raven Press, New York.
Hartshorne R. P., Keller B. U., Talvenheimo J. A., Catteral W. A., Montal M., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1985, **82**, 240-244.
Kitzis A. Chomel J. C., *La Recherche*, 1990, **21**, 104-106.
Levitzki A., *Physiol. Rev.*, 1986, **66**, 819-854.
Liu S. C., Derick L. H., Palek J., *J. Biol. Chem.*, 1987, **104**, 527-536.
Low M., *Biochem. J.*, 1987, **244**, 1-13.
Low M. G., Saltiel A. R., *Science*, 1988, **239**, 268-275.
McCloskey M., Poo M., *Int. Rev. Cytol.*, 1984, **87**, 19-81.
Montal M., Mueller P., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1972, **69**, 3561-3566.
Neher E., Sackmann B., *Nature*, 1976, **260**, 799-801.
Neher E., Stevens C. F., *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.*, 1977, **6**, 345-381.
Noda M., Ikeda T. *et al.*, *Nature*, 1986, **320**, 188-192.
Noren C. J., Anthony-Cahill S. J., Griffith M. C., Schultz P. G., *Science*, 1989, **244**, 182-188.
Riordan J. R., Rommens J. M., *Science*, 1989, **245**, 1066-1073.
Salas P. J. I., Vega-Salas D. E., Hochman J., Rodriguez-Boulan E., Edidin M., *J. Cell. Biol.*, 1988, **107**, 2363-2376.
Singer S. J., Nicholson G. L., *Science*, 1972, **175**, 720.
Soper J. W., Decker G. L., Pedersen P. L., *J. Biol. Chem.*, 1979, **254**, 11170-11176.
Staehelin A. L., Hull B. E., *Le Scienze*, 1978, n. 119.
Storch J., Kleinfeld A. M., *Trends Biochem. Sci.*, 1985, **119**, 418-421.
Sturmer W., Apell H. J., Wuddel I., Lauger P., *J. Membr. Biol.*, 1989, **110**, 67-86.
Tank D. W., Miller C., Webb W. W., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1982, **79**, 7749-7753.
Wills N. K., Zweifach A., *Biochim. Biophys. Acta*, 1987, **906**, 1-31.
Zampighi G., Kyte J., Freytag W., *J. Cell. Biol.*, 1984, **98**, 1851.


FABRIZIO C. CELENTANO

## MEMORIA [v. vol. IX, col. 806]

SOMMARIO



## BIOCHIMICA DELLA MEMORIA

### Introduzione

Quando fu redatta, circa otto anni fa, la sezione «Biochimica» per la voce MEMORIA, apparve opportuna una presentazione della materia che prevedesse informazioni su aspetti peculiari e sistematizzati. Chi volesse oggi ripercorrere quella sistematizzazione, nel tentativo di prospettarne un aggiornamento, si troverebbe paradossalmente a dover confermare quanto allora riportato, come se poco fosse stato aggiunto dalla ricerca neurobiologica in questo ultimo decennio: poco e, forse, non determinante. Il paradosso trova la sua spiegazione nella qualità e nel «taglio» che i recenti contributi all'argomento hanno assunto. In realtà, esaurite le osservazioni su particolari aspetti del problema (il metabolismo proteico, quello degli acidi nucleici, etc.) per carenza di sviluppi adeguati delle specifiche osservazioni, l'interesse dei ricercatori si è spostato su aspetti meno rigorosamente neurochimici e più generalmente neurobiologici e neuropsicologici. Hanno avuto da ciò impulsi straordinari gli studi su modelli artificiali e si sono consolidate ipotesi teoriche importanti che traggono punti di riferimento essenziali dalla biofisica e dalla bioingegneria. Proprio per questi motivi riteniamo opportuno utilizzare questo spazio per la discussione di un argomento che si pone più come appendice (alquanto post-datata) della nota del 1982, che in funzione di reale aggiornamento.

Negli anni centrali di questo decennio, un gruppo di ricercatori guidati da Erick Kandel, utilizzando un modello sperimentale già caro ai pionieri della neurochimica della m., basato sul sistema nervoso dell'*Aplysia californica*, caratterizzato da una struttura estremamente semplice, ha tentato di dare risposte corrette ai quesiti più complessi suscitati dagli studi di neuropsicologia della m. Le risposte fornite a tal proposito hanno il grande merito di essere verosimili, riproducibili e coerenti con le conoscenze precedenti.

Ciò che sta alla base delle ricerche del gruppo di Kandel, e che cercheremo di riassumere in questa nota, rappresenta, probabilmente, la chiave interpretativa più valida dell'intero problema.

Come insegna la neuropsicologia, l'apprendimento di nuovi comportamenti si basa su condizioni generali che possono essere ricondotte a eventi elementari quali l'abitudine (che esprime un affievolirsi della risposta a uno stimolo ripetitivo), la sensibilizzazione (che consente risposte anche a stimoli insufficienti) e il condizionamento (che esprime una forma di apprendimento più complessa delle precedenti, con l'inserimento di un fattore francamente cognitivo).

### Abitudine

Analizzando il meccanismo che sta alla base del fenomeno dell'abitudine, i ricercatori della Columbia University, guidati da Kandel, osservarono che l'evento fondamentale che ne rappresenta l'immediata conseguenza, vale a dire la ridotta efficacia della trasmissione sinaptica, sembra dipendere, almeno in parte, da una chiusura prolungata del canale presinaptico del $Ca^{2+}$, chiusura capace di ridurre il flusso dello ione e quindi la liberazione del neuromediatore. Ciò sarebbe responsabile dell'induzione di una variazione funzionale dell'efficacia di un gruppo di connessioni già esistenti giustificando il fenomeno della m. a breve termine.

Esempi di m. a breve termine sostenuta da eventi come quelli descritti sono numerosi, anche su specie animali più complesse, documentando la funzione plastica del tessuto nervoso nel modo più evidente. Quali siano i limiti di que-

sta plasticità, quanto possa variare l'efficacia di una data sinapsi, e, infine, quanto a lungo possa durare la variazione stessa, rappresentano quesiti non risolti; in particolare non sappiamo se eventi di tal genere possano sostenere anche funzioni della m. a lungo termine. Tuttavia appare lecito affermare che, con riferimento almeno al modello sperimentale della scuola di Kandel, le stesse variazioni dinamiche delle funzioni sinaptiche si possono realizzare in maniera durevole, consentendo di conservare l'atteggiamento indotto in forma di m. a lungo termine, prolungando e rinnovando lo stimolo capace di determinare l'insorgenza del fenomeno dell'abitudine. Evidentemente la maggior parte delle connessioni sinaptiche presenti nel modello sperimentale non sono affatto interessate dal tipo di stimolazione che determina l'apprendimento dell'abitudine, mentre, a livello di sinapsi particolari, stimolazioni relativamente modeste possono determinare variazioni a lungo termine dell'efficacia sinaptica.

**Sensibilizzazione**

La sensibilizzazione rappresenta una forma più complessa di apprendimento in confronto all'abitudine: essa consiste nell'esaltazione della risposta riflessa dell'animale come conseguenza della presentazione di uno stimolo efficace.

A livello cellulare anche la sensibilizzazione determina un'alterazione della trasmissione degli impulsi a livello delle sinapsi dei circuiti neuronali interessati. Lo stesso sito sinaptico può così essere regolato in maniera opposta da forme opposte di apprendimento: la sua attività può venire depressa dall'abitudine ed esaltata dalla sensibilizzazione.

Tuttavia in quest'ultimo caso entra in gioco anche un altro meccanismo noto con il termine di *facilitazione presinaptica*. Questo meccanismo viene mediato da una sinapsi asso-assonica: gli stimoli sensibilizzanti attivano un gruppo di interneuroni facilitanti che fanno sinapsi sulle terminazioni di cellule sensoriali. I neuroni facilitanti inducono un incremento di liberazione del neuromediatore da parte delle terminazioni sinaptiche delle cellule sensoriali determinando al loro interno un aumento di concentrazione di cAMP.

Poiché l'applicazione di serotonina determina la stessa risposta dell'attività degli interneuroni e degli stimoli naturali sensibilizzanti, e poiché le terminazioni delle cellule sensoriali ricevono una innervazione serotoninergica, si ritiene che alcuni dei neuroni facilitatori possano essere serotoninergici.

Per capire il rapporto tra l'incremento di cAMP e quello del neuromediatore liberato da una cellula sensoriale può essere utile ricordare le tappe essenziali della neurotrasmissione, così come si verifica nelle cellule sensoriali. Quando il potenziale d'azione si propaga verso le terminazioni sinaptiche delle cellule sensoriali, inizia un processo di depolarizzazione con l'apertura dei canali del $Na^+$; in tal modo la depolarizzazione continua ad aumentare fino a dare origine ad un potenziale d'azione nella terminazione stessa. La fase depolarizzante del potenziale d'azione nelle terminali apre quindi canali $Ca^{2+}$ voltaggio-dipendenti e fa sì che una certa quantità di $Ca^{2+}$ entri nella cellula. L'azione depolarizzante del potenziale d'azione apre anche diversi tipi di canali $K^+$; l'efflusso di $K^+$ che ne consegue determina la ripolarizzazione del potenziale di azione e la chiusura dei canali del $Ca^{2+}$. In conclusione, l'attivazione dei canali $Na^+$ e $K^+$ non determina soltanto l'insorgenza del potenziale d'azione e la sua durata, ma apre anche canali $Ca^{2+}$ e determina la durata della loro apertura. La serotonina e altri neuromediatori facilitanti, liberati dall'interneurone facilitante, stimolano le terminazioni delle cellule sensoriali e fanno aumentare i loro livelli di cAMP.

Quest'ultimo determina un prolungamento del potenziale di azione nelle terminazioni riducendo una delle componenti della corrente $K^+$ che normalmente pone fine al potenziale d'azione stesso e inducendo, di conseguenza, una apertura protratta dei canali $Ca^{2+}$ ed un arricchimento cellulare dello ione: la presenza di una maggior quantità di $Ca^{2+}$ intracellulare induce una maggior liberazione di neuromediatore. Inoltre serotonina e cAMP sono capaci di modificare le modalità con le quali $Ca^{2+}$ viene utilizzato dalla cellula inducendo un incremento di mobilità delle vescicole sinaptiche e amplificandone così l'effetto.

È stato sulla base di una serie di studi farmacologici e biochimici che si è riusciti a ricomporre la sequenza più probabile dei passaggi biochimici che hanno luogo in seguito alla sensibilizzazione. Secondo questo modello, la serotonina, che si ritiene venga liberata da alcuni neuroni facilitanti, nel corso dell'evento sensibilizzante attiva un recettore specifico presente sulla membrana della terminazione sinaptica della cellula sensoriale. Il recettore per la serotonina interagisce con una proteina associata alla membrana (proteina G), che a sua volta attiva un'adenilatociclasi con relativo incremento della concentrazione di cAMP nella terminazione. Il cAMP attiva una proteinchinasi che fosforilando altre proteine ne modifica la carica e di conseguenza anche la forma. Nel caso della sensibilizzazione, la proteinchinasi attivata fosforila una proteina che costituisce un particolare canale $K^+$ (canale $K^+$ serotoninosensibile) che è capace di partecipare attivamente proprio al fenomeno della sensibilizzazione. Infatti la fosforilazione di questo canale (o di una proteina ad esso associata) riduce una delle componenti della corrente $K^+$ che normalmente ripolarizza il potenziale d'azione. La riduzione di questa corrente fa prolungare il potenziale stesso e consente al canale $Ca^{2+}$ di rimanere attivato per un periodo più lungo.

La sensibilizzazione è un importante fenomeno tra quelli che caratterizzano i processi di apprendimento: essa è in grado di rinforzare a tal punto la risposta comportamentale da invertire la depressione sinaptica che ha luogo sia in corso di abitudine a breve termine che in quella a lungo termine. Ne deriva una considerazione di grande interesse: i contatti sinaptici, che di per sé rappresentano fenomeni genetici innati ed evolutivi, possono essere funzionalmente interrotti e quindi funzionalmente ristabiliti da semplici esperienze di apprendimento.

Una seconda considerazione consente di escludere la necessità che i processi di apprendimento (e quindi di m.) passino attraverso la formazione *de novo* di connessioni sinaptiche o la presenza di speciali neuroni «della memoria».

L'apprendimento può dipendere da variazioni di efficacia delle connessioni sinaptiche già esistenti e da cambiamenti che intervengono in neuroni che agiscono fondamentalmente come componenti essenziali delle normali vie riflesse.

**Condizionamento**

Il condizionamento rappresenta una forma di apprendimento più complessa di quella che caratterizza la sensibilizzazione, in quanto non si limita all'apprendimento delle proprietà di uno stimolo (stimolo sensibilizzante), ma consente di apprendere anche la associazione temporale che si stabilisce fra due stimoli, condizione essenziale per l'apprendimento delle relazioni causali.

Sempre per merito del gruppo di Kandel oggi sappiamo che il riconoscimento della sequenza temporale di due stimoli dipende dalla convergenza dello stimolo condizionato e di quello incondizionato su particolari neuroni sensitivi che appartengono al circuito dello stimolo condizionato; si osserva infatti una facilitazione presinaptica maggiore nei neuroni sensitivi (in altri termini una maggiore depressione dei canali $K^+$ serotoninosensibili, e quindi un maggior in-





Digitized by Google

gresso di $Ca^{2+}$ e una liberazione di maggiori quantità di neuromediatore) in risposta allo stimolo incondizionato, solo se, sottoposti a uno stimolo condizionato in un tempo immediatamente precedente, questi neuroni si trovano in stato di attivazione. Così, la trasmissione sinaptica fra un neurone sensitivo e il neurone successivo viene amplificata soltanto se il primo si trova in condizioni di attività in un tempo immediatamente precedente l'arrivo dell'afferenza dei neuroni facilitanti attivati dallo stimolo incondizionato.

In che modo si stabilisca questa esaltazione della facilitazione presinaptica in funzione della attività è stato chiarito proprio dalle ricerche del gruppo di Kandel. Una delle conseguenze dell'attivazione presinaptica è quella di consentire l'ingresso di $Ca^{2+}$ nei neuroni, a ogni potenziale d'azione, aumentando in tal modo la sintesi di cAMP, mediante l'intervento della calmodulina. In realtà, l'adenilatociclasi della maggior parte delle cellule dell'organismo non sembra essere $Ca^{2+}$ dipendente, tuttavia molte cellule nervose posseggono anche un secondo tipo di adenilatociclasi che è sensibile al complesso $Ca^{2+}$-calmodulina e che, se legata al complesso, produce una maggiore quantità di cAMP.

Il meccanismo cellulare del condizionamento sembra quindi essere una forma amplificata di quello che determina la sensibilizzazione, il che fa ritenere che possa esistere un modello di forme elementari di apprendimento che consenta anche schemi più complessi, in virtù di successive integrazioni di quegli stessi processi molecolari che caratterizzano le forme più semplici di apprendimento.

A conferma di quanto derivato dagli studi di Kandel *et al.*, ricordiamo le osservazioni condotte dal gruppo di Seymour Benzer sulla *Drosophila*. Usando metodi di selezione genetica, sono stati isolati quattro mutanti (di un solo gene) che non sono in grado di apprendere: tutti questi mutanti presentano un difetto nella cascata enzimatica del cAMP; uno di questi non possiede un tipo di fosfodiesterasi essenziale per la degradazione del composto ciclico, con accumulo conseguente del composto a livelli straordinariamente elevati; gli altri mutanti presentano, rispettivamente, alterazioni del recettore per la serotonina, alterazioni dei neuromediatori catecolaminergici, e, infine, alterazioni della adenilato-ciclasi $Ca^{2+}$-calmodulina dipendente. Questo insieme di ricerche di biologia molecolare indica che la cascata enzimatica di cAMP ha una importanza primaria nelle forme elementari di apprendimento e m.

**Bibliografia**
Benzer S., *Sci. Am.*, 1973, **229**, 24.
Dudai Y., *Trends Neurosci.*, 1985, **8**, 18.
Kandel E. R., in Isselbacher K. J. ed., *Medicine, Science and Society. Symposia Celebrating the Harvard Medical School Bicentennial*, 1984, Wiley, New York, p. 555.
Kandel E. R., Schwartz J. H., *Science*, 1982, **218**, 433.
Merzenich M. M., Nelson R. J. *et al.*, *J. Comp. Neurol.*, 1984, **224**, 591.

FEDERICO PICCOLI

## FARMACOLOGIA DELLA MEMORIA

**Introduzione**

Numerosi sono i modelli sperimentali utilizzati in laboratorio per lo studio degli effetti dei farmaci sui processi di apprendimento e m. Le motivazioni richieste e i tipi di risposta possono essere molto diversi gli uni dagli altri. Esistono esercizi in cui la motivazione è appetitiva (acqua, cibo), o avversiva (shock, immersione nell'acqua). Ne descriveremo qui alcuni che sono i più comunemente utilizzati e presentano una sufficiente validità previsionale. Si tratta di test appartenenti al cosiddetto condizionamento strumentale od operante, in cui la risposta dell'animale è *strumentale* nel modificare le circostanze ambientali, o, in altri termini, la risposta del soggetto opera sull'ambiente.

La gabbia di Skinner è uno strumento tipico, in cui un animale, ad es. un piccione, viene posto in presenza di un bottone colorato. Il piccione tenderà a beccare il bottone, ma se tale atto non avrà conseguenze in termini di stimoli ambientali, l'animale non sarà interessato a ripetere la sua risposta. Se però il piccione è affamato, e l'atto del beccare determina la caduta di un chicco di grano che l'animale potrà mangiare, esso sarà stimolato a beccare ancora. Si potrà studiare quindi l'azione di farmaci su questa forma di apprendimento. Un'altra tecnica molto utilizzata in psicofarmacologia è quella della gabbia bipartita. L'apparecchio consiste in una gabbia con pavimento oscillante, costituito da sbarrette di acciaio inossidabile, e suddivisa in due parti da un tramezzo con una porticina. Gli animali (ratti, topi) devono imparare a evitare uno shock (rinforzo negativo) somministrato attraverso la griglia, passando da un lato all'altro della gabbia, in risposta a uno stimolo condizionante (luce o suono) che, precedendo lo shock, avverte l'animale dell'imminenza della punizione. La risposta condizionata è appunto la risposta mediante la quale l'animale evita lo shock; quando l'animale passa dall'altro lato della gabbia dopo che lo shock gli è stato somministrato, la risposta viene invece definita incondizionata o di fuga.

La tecnica del *pole climbing* (salto sul palo) consiste nell'addestrare un animale, per es. un ratto, a salire lungo un palo allo scopo di evitare la corrente elettrica somministrata attraverso un pavimento a griglia su cui l'animale è poggiato. Anche in questo caso uno stimolo condizionante (campanello) avverte il soggetto che dopo un certo tempo verrà immessa una corrente nel pavimento. L'animale, per evitare lo shock, deve appunto trovare rifugio sul palo, al quale è avvolta una resistenza elettrica in cui viene tolta la corrente solo al suono del campanello.

In altri test gli animali possono essere addestrati a percorrere labirinti più o meno complessi, anche in questo caso per evitare lo shock, per procacciarsi cibo o per trovare rifugio su di una piattaforma (labirinto ad acqua). Uno dei primi e dei più utilizzati labirinti è senz'altro il labirinto di Lashley (1929), costituito da un certo numero di bracci a fondo cieco, comunicanti fra di loro mediante piccole aperture. L'animale deve imparare a percorrerlo partendo da una gabbietta di partenza, o per evitare uno shock somministrato attraverso un pavimento a griglia, o, se è stato affamato o assetato, per raggiungere, nella scatola di arrivo, il cibo o l'acqua.

Un test molto usato negli studi degli effetti dei farmaci sulla m. nell'animale di laboratorio è infine il test dell'evitamento passivo. Esso consta di un compartimento buio con il pavimento costituito da sbarrette di acciaio a cui l'animale accede da una piccola porticina partendo da una piattaforma illuminata. Entrato nel compartimento buio, l'animale riceve uno shock elettrico. La m. viene valutata sulla base del tempo che l'animale attende, in una prova successiva, per rientrare nel compartimento buio partendo dalla piattaforma esterna ad esso.

Gli effetti dei farmaci sull'apprendimento e la m. nell'animale di laboratorio possono essere studiati seguendo approcci differenti. I farmaci possono essere somministrati a tempi diversi, o prima o dopo le sedute di apprendimento nei vari test, per studiare i loro effetti sull'acquisizione, sull'immagazzinamento mnestico, o sul recupero dell'informazione.

Una procedura comunemente utilizzata è quella di somministrare i farmaci prima dell'apprendimento; gli animali possono essere riprovati giorni o settimane più tardi. Tuttavia questo metodo risente dell'interferenza di fattori aspecifici, come la sensibilità allo shock, il livello di attivazione durante l'apprendimento originario, l'effetto della sostanza sull'attività spontanea dell'animale, etc. Per evitare questi problemi molti ricercatori utilizzano il metodo della somministrazione dei farmaci *dopo* piuttosto che *prima* della seduta di apprendimento. Con questo metodo gli animali possono essere allenati e provati senza essere sotto la diretta influenza del farmaco. Tale procedimento si basa sul-





Digitized by Google

l'assunto che i processi di memorizzazione iniziati da una esperienza di allenamento richiedono un certo periodo di tempo per la fissazione e la consolidazione in una m. a lungo termine e, di conseguenza, essi rimangono suscettibili a influenze che li modifichino per un tale periodo successivo all'apprendimento (McGaugh e Herz, 1972).

Studi condotti con questo metodo in animali sotto azione di farmaci hanno mostrato chiaramente che i farmaci influenzano i processi di apprendimento e memorizzazione attraverso complesse interazioni con i sistemi di neuromediatori, come il sistema colinergico, il catecolaminergico, il GABAergico e il sistema degli oppioidi.

Esamineremo qui di seguito gli effetti di alcuni farmaci appartenenti alle varie classi farmacologiche in rapporto al sistema di neuromediatori cui sono più comunemente legati.

**Sistema colinergico e memorizzazione**

L'acetilcolina, il mediatore del sistema colinergico, e i farmaci a essa correlati hanno ricevuto un'attenzione considerevole per quanto riguarda il loro coinvolgimento nel processo di memorizzazione. A questo scopo sono stati utilizzati anticolinesterasici, come la fisostigmina e il diisopropilfluorofosfato, sostanze colinomimetiche, come la nicotina, o sostanze anticolinergiche, come atropina e scopolamina. È stato così dimostrato che la fisostigmina influenza i processi di memorizzazione quando viene somministrata all'animale di laboratorio dopo la prova di apprendimento. Studi condotti inizialmente da Stratton e Petrinovich (1963), e più recentemente da Deutsch *et al.* (1979) hanno dimostrato che questa sostanza facilita nel ratto l'acquisizione in soggetti provati in condizioni sperimentali diverse.

Come abbiamo sopra accennato, un'altra linea di ricerca, tesa a determinare un eventuale coinvolgimento dell'acetilcolina nel processo di memorizzazione, ha utilizzato sostanze colinomimetiche. La più studiata è stata la nicotina. La somministrazione di questa sostanza nel ratto dopo le prove di apprendimento è stata in genere seguita da una facilitazione della m. (Gold e Zornetzer, 1983). Gli effetti esercitati dalla nicotina dipendono tuttavia dalla dose, dal test e dalla specie animale considerata. Basse dosi di nicotina facilitano la m. più di dosi elevate. Dosi che esercitano effetti facilitanti in un tipo di esercizio hanno effetti negativi in un altro.

Gli agenti bloccanti muscarinici (atropina e scopolamina) sono stati infine studiati con risultati contrastanti da vari ricercatori. In generale, la loro somministrazione disturba i processi di memorizzazione, ma anche in questo caso il loro effetto è legato alla dose, in particolare per quanto riguarda l'atropina, per la quale è stato osservato un effetto facilitante a dosi non elevate.

**Catecolamine e memoria**

Studi di farmacologia comportamentale hanno suggerito che le catecolamine, in particolare l'adrenalina e la dopamina, giocano un ruolo rilevante nei processi di memorizzazione.

Ricerche condotte da Gold e van Buskirk (1975) hanno dimostrato che la somministrazione sottocutanea di adrenalina nel ratto esercita effetti contrastanti a seconda della dose. Dosi basse (0,01-0,1 mg/kg) esercitano effetti facilitanti, mentre dosi più elevate provocano amnesia. Farmaci che modulano la m. possono agire attraverso meccanismi catecolaminergici periferici. Numerosi studi hanno dimostrato che la somministrazione periferica di anfetamina dopo un test di apprendimento facilita la consolidazione della m. (Castellano, 1974; Haycock *et al.*, 1977). Similmente ad altre sostanze adrenergiche e colinergiche, l'anfetamina esercita un'azione bifasica sui processi di memorizzazione. È stato infatti osservato che essa può facilitare la consolidazione della m. a dosi basse (0,5 mg/kg), mentre dosi elevate (2,5 mg/kg) sono inefficaci. Numerosi laboratori hanno esaminato la possibilità che sostanze che interferiscono con il sistema catecolaminergico possano produrre un'amnesia retrograda. È stato ad es. osservato che la somministrazione di un farmaco che determina una deplezione di catecolamine, la reserpina, disturba la ritenzione di una risposta di evitamento in topi provati 8 giorni dopo l'apprendimento originario.

**GABA e memorizzazione**

L'ac. gamma-aminobutirrico (GABA) è il principale mediatore inibitorio del S.N.C. dei mammiferi. Numerosi esperimenti hanno studiato, nell'animale di laboratorio, l'effetto sulla m. di sostanze che agiscono sui recettori GABA. È stato così dimostrato che il muscimolo, agonista dei recettori A del GABA, e il baclofen, agonista dei recettori B, disturbano i processi di consolidazione della m. in ratti e topi e che tali effetti sono diretti sui processi di immagazzinamento mnestico. Altre ricerche, condotte con sostanze antagoniste del GABA, la picrotossina e la bicucullina, hanno dimostrato che la loro somministrazione facilita i processi di consolidazione mnestica. Ricerche condotte con agonisti e antagonisti GABAergici hanno portato alla conclusione che gli effetti della somministrazione sistemica di queste sostanze sono mediati centralmente, attraverso influenze che coinvolgono alcune strutture cerebrali, come l'amigdala e il sistema setto-ippocampico. Questo risultato lascia presupporre l'esistenza di circuiti che comprendono alcune strutture e non altre (ad es. il nucleo caudato), attraverso i quali le sostanze GABAergiche esercitano i loro effetti sui processi di memorizzazione (Castellano e McGaugh, 1989).

**Peptidi**

La somministrazione di vasopressina, subito dopo l'apprendimento, sembra facilitare i processi di memorizzazione nel ratto (De Wied *et al.*, 1976); l'effetto dipende dal tempo di somministrazione e dalla dose. Sembra che la vasopressina, oltre a facilitare il processo di consolidazione, faciliti anche il processo di recupero dell'informazione. L'altro prodotto della neurosecrezione del sistema ipotalamo-ipofisario, l'ossitocina, ha effetti opposti a quelli della vasopressina, facilitando l'estinzione di una risposta di evitamento attivo (Schulz *et al.*, 1974) e disturbando le prestazioni in un test di evitamento passivo (De Wied e Bohus, 1979). Tali effetti sono evidenti in seguito a somministrazioni dopo la prova di apprendimento e dipendono dal tempo e dalla dose somministrata. Per quanto riguarda l'ACTH, infine, esso può dare origine a eventi necessari per lo sviluppo della m. È interessante osservare che nell'animale di laboratorio, l'ACTH ha facilitato il ricordo di un evitamento passivo allorché l'intensità dello shock era bassa, e lo ha disturbato allorché lo shock era intenso (Gold e Zornetzer, 1983).

**Oppioidi**

Numerose ricerche sono state condotte negli anni recenti allo scopo di studiare l'effetto degli oppiacei (morfina, eroina) o degli oppioidi endogeni (encefaline, beta-endorfina) sui processi di memorizzazione. In genere la somministrazione di morfina, eroina e simili, dopo le prove di apprendimento in varie situazioni sperimentali, determina amnesia nell'animale di laboratorio (Castellano, 1975; Martinez *et al.*, 1981). Gli effetti esercitati dagli agonisti degli



Digitized by Google

oppiacei dipendono dalla dose e dal tempo di somministrazione e sono inibiti dagli antagonisti di questo gruppo di sostanze come il nalossone, il naltressone, etc. Numerosi studi hanno dimostrato che il processo di memorizzazione viene migliorato dalla somministrazione di antagonisti degli oppiacei (Martinez *et al.*, 1981). Per quanto riguarda gli oppioidi endogeni è stato dimostrato che anche questo gruppo di sostanze può indurre amnesia retrograda. Iniezioni di leu-encefalina e di beta-endorfina, dopo le prove di apprendimento, disturbano la memorizzazione nel roditore in vari test sperimentali (Izquierdo, 1980).

**Farmaci e memoria nell'uomo**

Abbastanza numerosi sono i dati riguardanti gli effetti di varie sostanze sulla capacità di apprendere e di memorizzare nell'essere umano. Questi dati sono stati raccolti con test particolari, come il ricordo di liste di sillabe, parole o numeri, i cosiddetti *items*, o con la valutazione della capacità del soggetto di apprendere a percorrere labirinti di varia difficoltà.

Già nel 1916 lo psichiatra Arthur Loevenhart notò che i farmaci narcotici, oltre a esercitare un effetto rilassante e ipnotico sul malato, gli consentivano di ricordare meglio e di riferire con lucidità le proprie esperienze passate. Da queste osservazioni ebbero origine i cosiddetti «sieri della verità», costituiti da sostanze come l'amital o il pentobarbital. Più recentemente è stato dimostrato che, fra i farmaci appartenenti al sistema colinergico, la scopolamina disturba la memorizzazione soprattutto nella fase di codificazione e di consolidazione. Prove di m. verbale hanno inoltre messo in evidenza che la nicotina, assunta a dosi moderate, può influenzare positivamente il ricordo di liste di parole. Essa tuttavia non agirebbe direttamente sul processo di immagazzinamento mnestico, ma più probabilmente sui processi di attenzione e vigilanza. Recentemente il sistema colinergico è stato coinvolto nelle disfunzioni della memorizzazione collegate con l'età, sia nell'animale che nell'uomo. È stato ad es. osservato che nei pazienti malati di morbo di Alzheimer si registra una notevole perdita di neuroni colinergici a livello del nucleo basale di Meynert. Questa osservazione, unita ad altre (Bartus *et al.*, 1982) ha fra l'altro stimolato l'entusiasmo dei ricercatori per la cosiddetta «ipotesi colinergica» della m. Tuttavia, come vedremo fra poco, nel morbo di Alzheimer sono presenti disfunzioni anche in corrispondenza di mediatori diversi dall'acetilcolina.

I tranquillanti minori possono provocare, soprattutto nell'anziano, disturbi nell'immagazzinamento dell'informazione, e, cioè, nell'acquisizione di materiale nuovo. Essi migliorano di conseguenza il ricordo di materiale appreso prima della somministrazione per la minore interferenza operata dall'apprendimento di nozioni nuove sul ricordo di materiale già appreso. Analogo effetto avrebbe l'alcol. Effetti negativi sulla m. vengono esercitati dalle droghe, siano esse «leggere», come la marijuana, che «pesanti», come morfina o eroina. Gli allucinogeni presentano una prerogativa peculiare, quella di riportare alla mente episodi dimenticati di un passato anche lontano. Un miglioramento nel ricordo di liste di parole è stato osservato infine dopo somministrazione di anfetamina a pazienti depressi. Dosi basse della stessa sostanza migliorano il ricordo in bambini normali. In generale gli studi condotti su soggetti adulti indicano che i farmaci catecolaminergici influenzano la memorizzazione agendo sull'attenzione, lo stato di attivazione o altri aspetti dei fenomeni che hanno luogo nel corso dell'apprendimento. È importante sottolineare che ricerche cliniche condotte sulla demenza senile di tipo Alzheimer hanno dimostrato il ruolo importante giocato da una struttura noradrenergica, il *locus coeruleus*, nella capacità di memorizzare. Si tratta di una regione piuttosto piccola (20.000 neuroni circa) che presenta una perdita di circa il 40% dei neuroni negli esseri umani anziani normali, ma più del doppio nei malati di morbo di Alzheimer. Queste osservazioni suggeriscono l'esistenza di un ruolo importante esercitato da questa struttura nel mantenimento di normali funzioni mnestiche e si aggiungono alle osservazioni relative all'importanza del sistema colinergico nella sindrome di Alzheimer.

La ricerca nel campo di sostanze in grado di migliorare la m. nel malato, o nell'anziano, ha portato allo sviluppo di tutta una serie di farmaci, alcuni dei quali presentano prospettive indubbiamente positive, mentre altri hanno fornito risultati dubbi. È quest'ultimo il caso della pemolina (Cylert®), o dell'ac. glutammico. Sembra che possano invece dare qualche risultato in questo campo i cosiddetti farmaci nootropici (da *noos*, mente e *tropein*, verso) come l'oxiracetam, il piracetam, oppure sostanze vasodilatatrici, che permettono una migliore ossigenazione cerebrale, o sostanze, come le lecitine, che sono ricche di colina, un costituente dell'acetilcolina, sostanza che esercita, come abbiamo visto, un ruolo importante nei processi di memorizzazione.

**Bibliografia**


Bartus R. T., *Science*, 1979, **206**, 1087.
Castellano C., *Psychopharmacologia*, 1974, **36**, 67.
Castellano C., *Psychopharmacology*, 1975, **42**, 235.
Castellano C., *La memoria*, 1987, Editori Riuniti, Roma.
Castellano C., McGaugh J. L., *Behav. Neur. Biol.*, 1989, **51**, 165.
Deutsch J. A., Rogers J. B., in Davis K. L. e Berger P. A. eds., *Brain Acetilcholine and Neuropsychiatric Disease*, 1979, Plenum, New York, p. 175.
De Wied D., Van Wimersma Greidanus T. *et al.*, in Corner M. A., Swaab D. F. eds., *Perspectives in Brain Research. Progress in Brain Research*, 1976, Elsevier, Amsterdam, p. 181.
De Wied D., Bohus B., in Brazier M. A. B. ed., *Brain Mechanisms in Memory and Learning: from Single Neuron to Man*, 1979, Raven Press, New York, p. 139.
Gold P. E., Van Buskirk R. B., *Behav. Biol.*, 1975, **13**, 145.
Gold P. E., Zornetzer S. F., *Behav. Neur. Biol.*, 1983, **38**, 151.
Haycock J. W., Van Buskirk R. B. *et al.*, *Psychopharmacologia*, 1977, **54**, 21.
Izquierdo I., *Behav. Neur. Biol.*, 1980, **30**, 460.
Martinez J. L., Jensen R. A., Messing R., Rigter H., McGaugh J. L. eds., *Endogenous Peptides and Learning and Memory Processes*, 1981, Academic Press, New York.
McGaugh J. L., Herz M. J., *Memory Consolidation*, 1972, Albion Publishing Company, San Francisco, California.
Schulz H., Kovacs G. L., Telegdy G., *Acta Physiol. Hung.*, 1974, **45**, 21.
Stratton L. O., Petrinovich L. F., *Psychopharmacology*, 1963, **5**, 47.


CLAUDIO CASTELLANO

## MENDELSON, SINDROME DI

La sindrome di Mendelson, ovvero l'aspirazione nel polmone di contenuto gastrico liquido, rappresenta una delle complicanze più gravi della anestesia o comunque di uno stato di ottundimento del sensorio o di coma ed è causa di morbilità e di mortalità di elevato grado.

Essa fu descritta, per la prima volta, nel 1946 da Mendelson, il quale osservò che le pazienti di un reparto di ostetricia che avevano aspirato contenuto gastrico, presentavano quadri clinici diversi a seconda della natura e dell'acidità del materiale aspirato; egli distingueva tra sintomi ostruttivi da aspirazione di solidi e risposta asmatiforme da inalazione di liquido gastrico. Studi effettuati successivamente hanno dimostrato che la s. di M. si manifesta allorquando il liquido aspirato ha un pH inferiore a 2,5 (Greenfield *et al.*, 1979); non è ancora definito, invece, il volume



Digitized by Google

limite al di sopra del quale la sindrome può realizzarsi. Secondo Teabeaut e Roberts sarebbe necessario un volume minimo di 25 ml (Teabeaut, 1952).

La conoscenza dei meccanismi alla base di questa sindrome è indispensabile per la prevenzione della stessa. La aspirazione di contenuto gastrico liquido nel polmone può realizzarsi a seguito di vomito o di rigurgito in assenza dei riflessi di protezione delle vie aeree. Il vomito presuppone un meccanismo attivo che si basa su di una contrazione muscolare coordinata e può manifestarsi facilmente all'induzione o al risveglio di un'anestesia. Il rigurgito, invece, può avvenire anche passivamente e si accompagna a due meccanismi correlati: l'aumento della pressione endogastrica e l'insufficienza valvolare gastroesofagea.

L'aumento di pressione endogastrica può essere dovuto a ritardo dello svuotamento gastrico, a sua volta influenzato da ansia, dolore, trauma, travaglio di parto, ostruzione pilorica o intestinale, compressione da masse endoaddominali, ascite, tossicità sistemica, squilibri metabolici, ipertensione endocranica, uso di analgesici oppiacei o farmaci parasimpatici. In pazienti sottoposti ad anestesia è da tener presente che le fascicolazioni prodotte dalla succinilcolina possono accrescere la pressione endogastrica fino al punto di rendere insufficiente la continenza dello sfintere gastroesofageo. Il tono di quest'ultimo viene in ogni caso ridotto anche dai miorilassanti non depolarizzanti, anche se questi ultimi influenzano meno la distensione dello stomaco.

L'insufficienza dello sfintere gastroesofageo può verificarsi in pazienti con stomaco disteso, in pazienti affetti da ernia iatale, brachiesofago, sclerodermia o altre connettivopatie vascolari nonché anemia perniciosa, in pazienti con masse addominali, in donne gravide, in pazienti in età avanzata ed in pazienti in cui sia stato posizionato un sondino nasogastrico nonché in pazienti anestetizzati. Il tono dello sfintere gastroesofageo può essere diminuito dalla teofillina, dai β-mimetici e dagli α-bloccanti; benché si ritenga che l'atropina possa aumentare il tono dello sfintere gastroesofageo, studi condotti di recente hanno dimostrato che l'atropina, alle dosi abitualmente utilizzate in preanestesia, abbassa il tono dello sfintere gastroesofageo inferiore: tale effetto, tuttavia, può essere eliminato con l'uso di metoclopramide (Cohen *et al.*, 1984; Brock-Utne *et al.*, 1976).

Recentemente per ridurre la secrezione cloridropeptica è stata raccomandata la somministrazione di anti-$H_2$. Sebbene queste sostanze riducano il volume gastrico, e quindi la pressione endogastrica, esse non garantiscono in termini assoluti che lo stomaco sia vuoto (Nabb *et al.*, 1979; Cooms *et al.*, 1982; Escolano *et al.*, 1989).

Utile per ridurre l'acidità del succo gastrico e quindi l'entità dei danni *ab ingestis* sembra l'uso del trisilicato di magnesio.

Per quanto concerne i riflessi protettivi della glottide è da tener presente che questi vengono aboliti dai vari farmaci utilizzati per l'anestesia. Tali riflessi, tuttavia, si intorpidiscono con l'età, il che rende conto dell'insorgenza, in alcune occasioni, di broncopolmonite da aspirazione anche in pazienti svegli.

Le conseguenze dell'aspirazione di contenuto gastrico liquido dipendono essenzialmente dal volume del materiale aspirato, dal pH e dall'eventuale presenza di batteri. I danni all'albero tracheobronchiale vanno da una semplice laringo-tracheite, che si manifesta con raucedine e faringodinia ad una ustione chimica bronchiolo-alveolare che provoca essudazione con stravaso di globuli rossi, edema, alterazione del surfattante e microembolismo polmonare.

Il quadro clinico di un paziente che abbia aspirato contenuto acido dallo stomaco è caratterizzato dalla triade: tachicardia, tachipnea, cianosi, che si manifestano quali segni dell'ipossiemia che si realizza a seguito dell'alterato rapporto ventilazione-perfusione, dell'atelettasia e della riduzione delle *compliance*.

All'auscultazione del torace si possono reperire sibili e rantoli a grosse e piccole bolle soprattutto nelle zone declivi del polmone. L'esame radiografico del torace è caratterizzato da infiltrato polmonare diffuso.

La prognosi di pazienti con polmoniti *ab ingestis* è molto grave. Il successo terapeutico dipende essenzialmente dalla rapidità della diagnosi e da un'altrettanto immediata messa in opera di misure terapeutiche atte ad eliminare l'ostruzione respiratoria, in modo da garantire efficaci scambi gassosi.

Gli obiettivi terapeutici prevedono innanzitutto la pervietà e la pulizia delle vie aeree. È tuttavia da tener presente che il danno alle mucose si verifica nel giro di pochi secondi e che le secrezioni bronchiali neutralizzano l'acido aspirato entro pochi minuti. Pertanto il lavaggio bronchiale lungi dal neutralizzare l'acido aspirato potrebbe piuttosto provocare un'ulteriore diffusione del danno.

Il mantenimento di adeguati scambi gassosi, in caso di aspirazione di piccole quantità di liquido, può essere garantito dalla somministrazione di $O_2$ mediante una maschera o sondino nasofaringeo. Nei casi più gravi in cui si manifestano ipossiemia e accumulo di $CO_2$, sarà necessario ricorrere ad intubazione tracheale e ventilazione meccanica, eventualmente con supporto di PEEP (*positive end-expiratory pressure*). Frequenti controlli emogasanalitici e, se necessario, il monitoraggio emodinamico saranno di guida nella gestione terapeutica: molto discutibile, attualmente, il ruolo dei corticosteroidi nel ridurre il danno polmonare.

Per quanto concerne l'uso di antibiotici è da sottolineare che il succo gastrico è sterile e pertanto, a meno che non si sospetti inalazione di materiale gastrico fecaloide, che contiene germi gramnegativi, la somministrazione profilattica di antibiotici va evitata per la possibilità di stabilire antibiotico-resistenza. Opportuna, invece, sembra essere la coltura del broncoaspirato, alla comparsa dei primi segni clinici di infezione secondaria, al fine di poter instaurare una antibiotico-terapia mirata.

Cambiamenti di decubito ad intervalli regolari, fisioterapia toracica e broncoaspirazioni costituiscono presidi terapeutici atti ad evitare ulteriori complicanze nelle posizioni declivi del polmone. Un accurato bilancio di entrate e di uscite dei liquidi e, se possibile, la pesata giornaliera del paziente associata alla misura della pressione venosa centrale (PVC) o meglio ancora al monitoraggio emodinamico guideranno la terapia infusionale. Dato, comunque, l'alto grado di morbilità e mortalità di tale complicanza, notevole importanza assumono le misure precauzionali atte a prevenire tale sindrome. Raccomandazioni generali per la prevenzione dell'aspirazione di materiale gastrico in pazienti da sottoporre ad intervento chirurgico prevedono un digiuno preoperatorio di almeno 8 h, l'uso di farmaci anti-$H_2$ e di bloccanti la secrezione gastrica quali l'omeprazolo 2-4 h prima dell'intervento (Moore *et al.*, 1989), la somministrazione di antiacidi in pazienti a rischio ovvero in pazienti obesi, in gravidanza, in pazienti con una storia di ernia iatale o di riflusso gastroesofageo o comunque in pazienti da sottoporre ad intervento di urgenza, che vanno considerati sempre come se fossero a stomaco pieno.

Qualora in soggetti a stomaco pieno si proceda a svuotamento gastrico previo sondino, quest'ultimo andrà subito rimosso onde evitare diminuzione di tono dello sfintere esofageo.

Molto importante è l'osservazione del paziente durante le varie fasi dell'anestesia al fine di individuare immediatamente episodi di vomito. In tali casi può essere utile girare





Digitized by Google

lateralmente la testa del paziente per evitare l'aspirazione polmonare.

L'intubazione orotracheale in pazienti a rischio andrà effettuata preferibilmente a paziente sveglio previa sedazione, che consenta il mantenimento dei riflessi di protezione delle vie aeree, e con compressione della cartilagine cricoide al fine di occludere l'esofago tra trachea e colonna vertebrale.

La metoclopramide, un agente antiemetico che accelera lo svuotamento gastrico e aumenta il tono dello sfintere gastroesofageo, può essere utile soprattutto nelle partorienti, spesso presumibilmente a stomaco pieno. Tuttavia, studi relativi al suo uso hanno dato risultati controversi. Nel postoperatorio i pazienti a rischio devono essere estubati solo quando gli effetti residui dei miorilassanti e degli anestetici sono stati eliminati. Nei pazienti in terapia intensiva particolare attenzione dovrà essere rivolta alla tenuta della cuffia tracheale e alle posizioni del paziente. Ovviamente un tubo non ben cuffiato e le posizioni prona, laterale o di Trendelenburg sono associati ad una maggiore incidenza di rigurgito.

Al momento attuale l'esistenza di farmaci che ci consentono di abbassare il grado di acidità del contenuto gastrico e di controllarne la secrezione sembra farci sperare che questa sindrome possa in un futuro prossimo manifestarsi sempre più raramente.

**Bibliografia**


Brock-Utne, Rubin *et al.*, *Anesthesia*, 1976, **31**, 1186.
Cohen S. E., Jasson J. *et al.*, *Anesthesiology*, 1984, **61**, 604.
Cooms D. W., Hooper D. *et al.*, *Ann. Emerg. Med.*, 1982, **11**, 252.
Dobb G., Jordan M. J. *et al.*, *Brit. J. Anesth.*, 1979, **51**, 967.
Escolano F., Castano J. *et al.*, *Anesthesia*, 1989, **44**, 212.
Greenfield L. J., Singleton R. P. *et al.*, *Ann. Surg.*, 1979, **170**, 74-86.
Mendelson C. L., *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1946, **52**, 191-205.
Moore J., Flynn R. J. *et al.*, *Anesthesia*, 1989, **44**, 559.
Teabeaut J. R., *J. Pathol.*, 1952, **28**, 51-62.


ROSALBA TUFANO E ELVIRA GRAVINO

**MENINGI** [v. vol. IX, col. 835]

## LA RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE E LA TOMOGRAFIA COMPUTERIZZATA NELLA DIAGNOSI DELLE EMORRAGIE MENINGEE

SOMMARIO



### Introduzione

In epoca precedente alla introduzione della risonanza magnetica nucleare (RMN) la presenza di un versamento ematico in uno degli spazi delimitati dalle meningi (spazio subaracnoideo, sottodurale ed epidurale) veniva evidenziata esclusivamente con la tomografia computerizzata (TC) o con l'angiografia. La TC è infatti in grado di documentare direttamente la presenza di tessuto ematico in uno dei tre compartimenti mentre l'angiografia mostra la presenza di una zona avascolare corrispondente all'ematoma e le dislocazioni vascolari provocate dall'ematoma stesso. Nel caso di emorragia subaracnoidea, inoltre, è in grado di evidenziare l'eventuale aneurisma responsabile dell'emorragia.

La RMN ha dimostrato di essere una metodica molto sensibile nello studio di questa patologia anche se la TC conserva un ruolo molto importante, soprattutto nello studio della emorragia subaracnoidea, e l'angiografia rimane un esame fondamentale nella ricerca e nello studio delle lesioni aneurismatiche.

Fig. 1. Tomografia computerizzata. Emorragia subaracnoidea in fase acuta: presenza di tessuto di aumentata densità che occupa diffusamente la cisterna chiasmatica e la cisterna silviana di destra.

### Emorragia subaracnoidea

L'emorragia subaracnoidea rappresenta l'8% degli eventi cerebro-vascolari acuti ed è, nella maggior parte dei casi, secondaria alla rottura di un aneurisma o di una malformazione arterovenosa.

Con la TC è possibile documentare con facilità la presenza di sangue negli spazi subaracnoidei; infatti la normale ipodensità di tipo liquorale evidente nel contesto delle cisterne e dei solchi cerebrali appare sostituita da una iperdensità più o meno accentuata a seconda dell'entità del sanguinamento e del tempo intercorso dall'evento acuto all'esame stesso (fig. 1). L'emorragia subaracnoidea può essere di più difficile identificazione nei pazienti anemici a causa del basso valore dell'ematocrito. La sensibilità diagnostica della TC decresce con il passare del tempo in relazione al riassorbimento del sangue presente negli spazi subaracnoidei: tale esame, infatti, è in grado di documentare la presenza di un'emorragia subaracnoidea nello stesso giorno dell'esordio nel 90% dei casi, mentre a distanza di 3 giorni soltanto nel 66,7% dei casi. La TC è inoltre in grado di rilevare con precisione la presenza delle emorragie intraventricolari o intraparenchimali eventualmente associate e dell'eventuale idrocefalo secondario. La TC eseguita dopo somministrazione di mezzo di contrasto (angio-TC) può consentire la identificazione della malformazione vascolare, angioma o più frequentemente aneurisma (fig. 2), responsabile del sanguinamento in una percentuale di casi variabile dal 44 al 67% (Katada *et al.*, 1978; Takayasu *et al.*, 1985).





Digitized by Google

Fig. 2. Angio-TC: aneurisma dell'arteria comunicante posteriore destra. Presenza di circoscritto nucleo di aumentata densità (*freccia*), localizzato nella parte destra della cisterna chiasmatica.

L'utilità della RMN nello studio dell'emorragia subaracnoidea in fase acuta è tuttora oggetto di discussione; è opinione diffusa infatti che questa metodica sia meno sensibile nello studio di tale patologia (Bradley e Schmidt, 1985; Chakeres e Bryan, 1986). Questa minore sensibilità può essere spiegata con la scarsa formazione nella fase acuta di desossiemoglobina, a causa della tensione di ossigeno troppo elevata presente negli spazi subaracnoidei. Inoltre la desossiemoglobina presente in soluzioni idriche sembra possedere proprietà paramagnetiche ridotte (Bradley e Schmidt, 1985). Studi sperimentali hanno dimostrato che, in caso di contaminazione ematica del liquor, i tempi di rilassamento $T_1$ e $T_2$ diminuiscono proporzionalmente all'aumentare della concentrazione ematica, avvicinandosi a quelli del normale parenchima cerebrale senza però mai diventare più corti di questi ultimi. Il liquor frammisto a sangue presenta pertanto una scarsa differenza di segnale rispetto al parenchima cerebrale risultando ipointenso nelle sequenze pesate in $T_1$ ed iperintenso nelle sequenze pesate in $T_2$. Per questo motivo viene difficilmente evidenziato con la RMN. Secondo alcuni dati riportati in letteratura (Satoh e Kadoya, 1988) questa difficoltà può essere superata utilizzando sequenze con TR lungo e TE intermedio nelle quali il liquor nello spazio subaracnoideo mantiene un segnale ipointenso mentre il sangue presente in detto spazio emette un segnale iperintenso. Con tali sequenze la RMN sembrerebbe in grado di documentare nel 100% dei casi la presenza di sangue negli spazi subaracnoidei in quantità anche minime e pertanto non apprezzabili con la TC.

Nella emorragia subaracnoidea in fase subacuta la presenza di metaemoglobina provoca un significativo accorciamento del tempo di rilassamento $T_1$ determinando un'iperintensità del segnale presente nello spazio subaracnoideo (fig. 3).

Nella fase cronica della emorragia subaracnoidea può essere presente una emosiderosi superficiale, evidente come un'ipointensità lungo i margini parenchimali nelle immagini pesate in $T_2$, dovuta al deposito di emosiderina sulle m. e sulla superficie cerebrale. Con la RMN è inoltre possibile documentare correttamente l'eventuale presenza di una emorragia o di una sofferenza del parenchima cerebrale

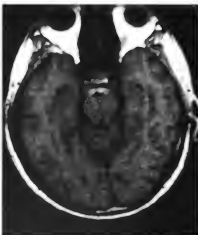
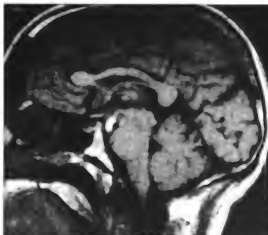
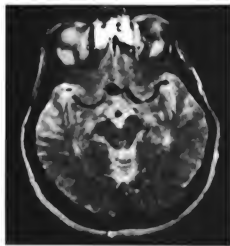
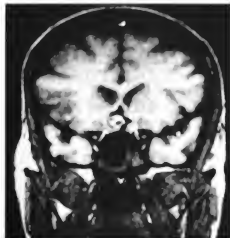



Fig. 3. Risonanza magnetica nucleare. Emorragia subaracnoidea in fase subacuta: immagini pesate in $T_1$ (TR 400, TE 25) sul piano sagittale (*a sinistra*) ed assiale (*a destra*). Presenza di tessuto con segnale iperintenso che occupa la cisterna interpeduncolare.



Digitized by Google

A

B

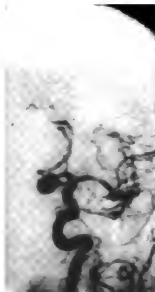
e l'insorgenza di un idrocefalo secondario all'emorragia subaracnoidea.

Infine, anche la RMN, analogamente alla TC, è in grado di rilevare la presenza di aneurismi cerebrali evidenti in tutte le sequenze come aree di assenza di segnale. Con la RMN gli aneurismi vengono evidenziati in ogni caso se di dimensioni giganti (Worthington *et al.*, 1983) ed in almeno il 50% dei casi se di diametro superiore ai 6 mm (fig. 4, *A*) (Satoh e Kadoya, 1988).

La RMN permette inoltre di identificare eventuali trombi all'interno dell'aneurisma evidenti come aree iperintense, nelle immagini pesate in $T_1$, dovute alla presenza di metaemoglobina (fig. 4, *B*) o come aree ipointense, nelle immagini pesate in $T_2$, dovute alla presenza di emosiderina. Ulteriori informazioni sulla presenza di aneurismi cerebrali si possono ottenere con l'angiografia a RMN. Secondo alcuni dati riportati in letteratura (Ross *et al.*, 1990) tale metodica sarebbe in grado di evidenziare aneurismi di piccole dimensioni, dell'ordine di 3-4 millimetri. Nel sospetto di un'emorragia subaracnoidea rimane comunque indispensabile l'esecuzione di un esame angiografico (fig. 4, *C*). L'identificazione di un aneurisma prima dell'angiografia può essere di aiuto nell'esecuzione dell'esame stesso sebbene quest'ultimo debba essere esteso in ogni caso allo studio di tutti i distretti vascolari intraeranici (Bastianello *et al.*, 1989). Nel caso di aneurismi cerebrali multipli è necessario sapere prima dell'intervento quale di essi abbia sanguinato. La RMN si è dimostrata superiore alla TC nel dimostrare il sito di sanguinamento in pazienti con aneurismi multipli (Satoh e Kadoya, 1988; Haekney *et al.*, 1986; Stone *et al.*, 1988), anche se questa informazione è correttamente ottenuta integrando i dati RMN con quelli TC ed angiografiei.



C

Fig. 4. Risonanza magnetica nucleare. Immagini sul piano assiale (*A*) pesate in $T_2$ (TR 2500, TE 110) e sul piano coronale pesate in $T_1$ con tecnica ad inversione di gradiente (*B*). Presenza di aneurisma del diametro di 8 mm, localizzato sulla arteria comunicante anteriore ed evidente come area di assenza di segnale (*A*). Nella sequenza pesata in $T_1$ (*B*) presenza nel contesto dell'aneurisma di aree iperintense espressione di trombi all'interno della malformazione. L'angiografia carotidea sinistra (*C*) conferma la presenza dell'aneurisma.

**Ematoma sottodurale**

L'ematoma sottodurale, costituito da una raccolta ematica tra dura madre ed aracnoide, nella grande maggioranza dei casi è di origine post-traumatica.

Prima dell'avvento della RMN la TC ha costituito il principale metodo di studio di tale patologia. La TC è infatti in grado di documentare la presenza di un versamento ematico in sede sottodurale e di seguirne l'evoluzione nel tempo. In fase acuta l'ematoma sottodurale appare alla TC come un'area di morfologia a falda, estesa in superficie e di densità nettamente superiore a quella del parenchima cerebrale (fig. 5). La componente tessutale principalmente re-





Digitized by Google

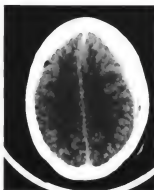



Fig. 5. Tomografia computerizzata. Ematoma sottodurale in fase acuta: presenza di tessuto di aumentata densità con aspetto a falda, compreso tra teca cranica e corteccia cerebrale in sede fronto-parietale destra.

sponsabile dell'assorbimento delle radiazioni è la frazione proteica dell'emoglobina mentre il ferro contribuisce in misura inferiore al 10% (Sipponen *et al.*, 1984). In fase subacuta l'ematoma sottudurale appare isodenso rispetto al parenchima cerebrale ed è possibile evidenziare la presenza di una membrana che si potenzia dopo mezzo di contrasto. In fase cronica, infine, l'ematoma è evidente come un'area di netta ipodensità, simile a quella del liquido cefalorachidiano (fig. 6). La presenza di densità miste in un ematoma sottodurale è espressione di sanguinamenti multipli. Il versamento più recente può stratificarsi al di sopra di quello di vecchia data o assumere una forma irregolare per la presenza di concamerazioni dovute all'organizzazione del precedente ematoma (fig. 7).

Fig. 6. Tomografia computerizzata. Ematoma sottodurale in fase cronica: presenza di tessuto ipodenso con aspetto a falda localizzato tra teca cranica e corteccia cerebrale in sede fronto-parietale sinistra.

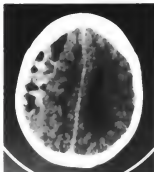



Fig. 7. Tomografia computerizzata. Ematoma sottodurale in fase cronica: presenza di estesa area di alterata densità con aspetto a falda compresa tra teca cranica e corteccia cerebrale in sede frontotemporale sinistra. Le concamerazioni multiple sono espressione di ripetuti sanguinamenti e di organizzazione dell'ematoma.

Bisogna inoltre ricordare che poiché la densità varia con l'ematocrito in relazione alla concentrazione di emoglobina, nei pazienti anemici l'ematoma sottodurale può apparire iso-ipodenso anche in fase acuta.

La TC fornisce una buona documentazione degli effetti compressivi e della dislocazione del sistema ventricolare e dell'eventuale sofferenza del parenchima cerebrale.

Nonostante ciò la diagnosi TC dell'ematoma sottodurale presenta alcune difficoltà. Possono verificarsi errori di interpretazione nella fase isodensa degli ematomi specialmente se bilaterali. Ematomi localizzati in sedi atipiche, come la falce o il tentorio, possono presentare difficoltà diagnostiche. Con la TC, infine, non è possibile differenziare un ematoma sottodurale cronico da un igroma.

L'introduzione nella pratica diagnostica della RMN ha consentito di superare queste difficoltà. Questa metodica ha dimostrato infatti di essere molto sensibile nell'evidenziare la presenza di sangue o dei suoi prodotti di degradazione. L'assenza di segnale dalle strutture ossee vicine consente inoltre di rilevare la presenza di ematomi sottili e di piccole dimensioni.

In fase acuta l'ematoma sottodurale appare isointenso rispetto al parenchima cerebrale nelle sequenze pesate in $T_1$ ed ipointenso nelle sequenze pesate in $T_2$. Questo comportamento è dovuto alla presenza di desossiemoglobina.

In fase subacuta la presenza di metaemoglobina determina un netto accorciamento del tempo di rilassamento $T_1$. Sul piano delle immagini ciò si traduce in una iperintensità sia nelle immagini pesate in $T_1$ (fig. 8) che in quelle pesate in $T_2$ (Sipponen *et al.*, 1984; Han *et al.*, 1984; Moon *et al.*, 1984; Hosoda *et al.*, 1987).

Nella fase cronica l'ematoma sottodurale rimane iperintenso sia in $T_1$ che in $T_2$.

Analogamente a quanto descritto per le TC, la presenza di successivi sanguinamenti determina la comparsa di segnali diversi che possono essere o non essere stratificati a seconda dell'organizzazione del precedente ematoma.

L'igroma sottodurale, costituito da una raccolta di liquor nello spazio sottodurale, presenta invece un segnale ipointenso nelle sequenze in $T_1$ ed iperintenso in $T_2$ con un comportamento simile a quello del liquor (fig. 9).

In conclusione, la RMN ha dimostrato di essere la metodica più sensibile nello studio dell'ematoma sottodurale e di presentare precisi vantaggi rispetto alla TC in determinate situazioni: nell'evidenziare piccole raccolte ematiche, nella diagnosi di ematomi in sedi atipiche (falce e tentorio), nello studio degli ematomi bilaterali in fase isodensa (fig. 10) e nella diagnosi differenziale con l'igroma (Fobben *et al.*, 1989).

**Ematoma epidurale**

L'ematoma epidurale è costituito da un versamento ematico, quasi sempre di natura post-traumatica, compreso tra le ossa della volta o della base cranica e la dura madre. Nella maggior parte dei casi è secondario ad una lacerazione arteriosa, più frequentemente dell'arteria meningea media o di uno dei suoi rami principali. La sede più frequente è quella temporale.



Digitized by Google

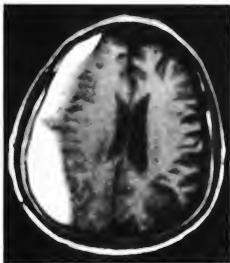



Fig. 8. Risonanza magnetica nucleare. Ematoma sottodurale in fase subacuta. Immagine assiale pesata in $T_1$ (TR 600, TE 25). Presenza di tessuto iperintenso compreso tra teca cranica e corteccia cerebrale in sede fronto-parietale sinistra. Compressione e dislocazione controlaterale del sistema ventricolare sovratentoriale.

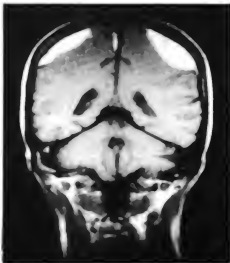



Fig. 10. Risonanza magnetica nucleare. Ematoma sottodurale bilaterale in fase cronica. Immagine sul piano coronale pesata in $T_1$. Presenza di circoscritte aree iperintense comprese tra teca cranica e corteccia cerebrale bilateralmente. Una piccola area iperintensa è apprezzabile in sede interemisferica (*freccia*).

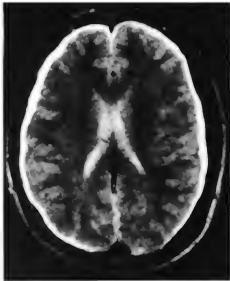



Fig. 9. Risonanza magnetica nucleare. Igroma sottodurale. Immagini sui piani assiali pesate in $T_1$ (*a sinistra*) e in $T_2$ (*a destra*): presenza di sottili aree di alterato segnale comprese tra teca cranica e corteccia cerebrale ipointese nelle sequenze in $T_1$ e iperintense nelle sequenze in $T_2$.





Digitized by Google

Le caratteristiche della densità alla TC e dell'intensità di segnale alla RMN sono sovrapponibili a quelle già descritte per l'ematoma sottodurale. L'ematoma epidurale appare pertanto alla TC iperdenso in fase acuta, isodenso in fase subacuta e ipodenso in fase cronica.

Con la RMN tale ematoma appare in fase acuta isointenso in $T_1$ ed ipointenso in $T_2$, in fase subacuta e cronica iperintenso sia in $T_1$ che in $T_2$. Va comunque segnalato che l'ematoma epidurale rappresenta un'emergenza chirurgica e che sono rari i casi osservabili in fase subacuta e cronica.

In base a queste caratteristiche non è dunque possibile formulare una diagnosi differenziale tra l'ematoma sottodurale e l'ematoma epidurale. A questo scopo possono invece essere di aiuto i criteri clinici e morfologici delle due lesioni. Dal punto di vista clinico, infatti, l'ematoma epidurale, secondario a traumi cranici di maggiore entità ed associato frequentemente a fratture della volta o della base, è caratterizzato, come già detto, da un più rapido peggioramento delle condizioni del paziente.

Anche i criteri morfologici sono molto utili nella diagnosi differenziale tra ematoma epidurale e sottodurale. Infatti l'ematoma epidurale si presenta come un'area di morfologia lentiforme (biconvessa), si estende su di una porzione più limitata della superficie cerebrale ed è delimitato dalla inserzione periostale a livello delle suture ossee. Inoltre tale tipo di ematoma può attraversare la linea mediana. Al contrario l'ematoma sottodurale ha più frequentemente una morfologia a falda, uno spessore più sottile (in genere 1-2 cm) e si estende su di una superficie cerebrale più ampia. L'ematoma sottodurale, inoltre, non attraversa la linea mediana a causa della presenza della falce.

Anche nello studio dell'ematoma epidurale la RMN ha dimostrato di essere una metodica più sensibile della TC soprattutto nell'evidenziare la presenza di piccole raccolte ematiche che possono sfuggire alla TC a causa della vicinanza delle strutture ossee.

**Emorragie meningee intrarachidee**

Le emorragie meningee possono verificarsi, sia pure più raramente, anche a livello intrarachideo. In questa sede l'emorragia subaracnoidea è più frequentemente secondaria alla rottura di una malformazione arterovenosa. Le caratteristiche della densità e dell'intensità del segnale del sangue presente negli spazi subaracnoidei sono sovrapponibili a quelle descritte per le emorragie intracraniche. La TC e soprattutto la RMN possono evidenziare la presenza della malformazione responsabile del sanguinamento per lo studio della quale rimane comunque indispensabile l'angiografia midollare.

L'ematoma epidurale anche in sede intratecale è nella maggior parte dei casi secondario ad un trauma di discreta entità, frequentemente responsabile di una frattura vertebrale. Gli ematomi spontanei possono essere secondari a malformazioni vascolari extradurali o a malattie sistemiche. La sintomatologia neurologica è rapidamente ingravescente. La mielografia è in grado di evidenziare la presenza e la sede di un blocco di tipo extradurale, ma non fornisce elementi sulla natura di tale blocco. La TC e soprattutto la RMN sono invece in grado di documentare sia la presenza del versamento ematico in sede extradurale, che gli effetti compressivi da esso esercitati sul midollo spinale.

**Bibliografia**


Bastianello S., Bozzao A., Fantozzi L. M., Pierallini A., Bozzao L., *Panminerva Medica*, 1989, **31**, 22-27.
Bradley W. G., Schmidt P. G., *Radiology*, 1985, **156**, 99.
Chakeres D. W., Bryan N. R., *AJNR*, 1986, **7**, 223-228.
Fobben E. S. *et al.*, *AJR*, 1989, **153**, 589-595.
Hackney D. B. *et al.*, *J. Comput. Assist. Tomogr.*, 1986, **10**, 878.
Han J. S. *et al.*, *Radiology*, 1984, **150**, 71-77.
Hosoda H. *et al.*, *J. Neurosurg.*, 1987, **67**, 677-683.
Katada K. *et al.*, *Neuroradiology*, 1978, **16**, 337.
Moon K. L. *et al.*, *AJNR*, 1984, **5**, 319.
Ross J. S. *et al.*, *AJR*, 1990, **155**, 159-165.
Satoh S., Kadoya S., *Neuroradiology*, 1988, **30**, 361-366.
Sipponen J. T. *et al.*, *Radiology*, 1984, **150**, 79-85.
Stone J. L. *et al.*, *Neurosurgery*, 1988, **23**, 97.
Takayasu M. *et al.*, *Neurol. Med. Chir. (Tokio)*, 1985, **25**, 27.
Yoon H. C. *et al.*, *AJNR*, 1988, **9**, 404.
Worthington B. S. *et al.*, *AJNR*, 1983, **4**, 835.


LUIGI BOZZAO E ALBERTO PIERALLINI

**MENINGIOMI** [v. vol. IX, col. 849]

**Aspetto microscopico**

L'aspetto microscopico dei meningiomi è piuttosto variabile e non sorprende che la classificazione di Cushing ed Eisenhardt, del 1938, descrivesse 9 tipi e 20 sottotipi, o varietà. Gli AA. più moderni, invece, distinguono 4 tipi principali (meningoteliomatoso, fibroblastico, transizionale o psammomatoso, angioblastico), oltre ad alcuni sottotipi più frequenti. Il motivo di queste suddivisioni risiede nelle frequentissime e varie alterazioni, citologiche e regressive, dei m. (vedi oltre) tra le quali rientra, per es., il polimorfismo cellulare; non si osservano, tuttavia, l'anaplasia e la ipercromasia cellulare dei tumori maligni.

Il m. *meningoteliomatoso* (o m. endoteliomatoso, m. sinciziale o leptomeningioma, m. meningoteliale tipo I) è formato da masse solide, alquanto lobulate, di cellule poligonali, a margini mal definiti, con citoplasma omogeneo, talvolta finemente granuloso. I nuclei sono grandi, sferoido-ovoidali, in posizione centrale, con cromatina delicata e due o tre piccoli nucleoli e talvolta contengono un vacuolo chiaro, il cosiddetto corpo incluso. I lobuli possono essere inframezzati da formazioni vorticose e dai caratteristici corpi psammomatosi (cfr. fig. 1 della voce MENINGIOMI, IX, 853), di colorito purpureo. Le prime sono costituite da cellule tumorali allungate, disposte in modo da dare origine a figure a vortice o concentriche; i secondi sono strutture sferiche, concentriche, formate da cristalli di idrossi-apatite di calcio, birifrangenti alla luce polarizzata, probabilmente depositati su una matrice collagene ed in continuità con vasi obliterati. Sono spesso presenti cellule xantomatose, isolate o a gruppi; si tratta di cellule tondeggianti, rigonfie, a nucleo piccolo, con citoplasma schiumoso contenente materiale Sudan-positivo. La loro presenza conferisce al tumore un colorito giallo. Il reticolo argentofilo si ritrova soltanto in rapporto ai vasi sanguigni, mentre tra i lobuli le fibrille sono rare.

Il m. *fibroblastico* (o m. fibroso, fibroblastoma durale) è formato da cellule fusiformi lunghe e sottili (simili ai fibrociti), disposte in fasci che si intersecano in vari sensi; occasionalmente i nuclei, stretti ed a bastoncello, si dispongono a palizzata così da simulare lo schwannoma. Fibre reticoliniche, abbondanti e numerose, formano linee parallele separate da cellule allineate; sono presenti anche fibre collagene: ambedue conferiscono al tumore una notevole consistenza.

Il m. *transizionale* (o m. misto, m. psammomatoso, m. meningoteliale tipo II) ha caratteri intermedi tra quelli dei primi due. È composto da numerosi vortici e strutture concentriche, fatti da cellule allungate e semilunari, disposte spesso attorno ad un vasellino sanguigno; quando a questi aspetti si accompagnano numerosi corpi psammomatosi si parla anche di m. psammomatoso, che è più frequente nel tratto spinale.

Il m. *angioblastico* (cfr. fig. 4, *a destra*, della voce MENINGIOMI, IX, 854), o angiomatoso, meno frequente dei precedenti, ha un aspetto spugnoso causato da una sovrabbon-

danza di cavità vascolari nel contesto dei suddescritti tipi di m. I vasi sanguigni variano di calibro, dai capillari ad ampie cavità cavernose o sinusoidali, e le cellule interposte spesso sono vacuolizzate o schiumose contenendo lipidi sudanofili anisotropici. Una trama estesa di reticolo mette in risalto i canali vascolari e circonda piccoli gruppi di cellule. Questo aspetto è simile a quello dell'emangioblastoma capillare; e similmente questo m. viene soprattutto trovato nelle regioni del tentorio del cervelletto e del torculare di Erofilo.

Esistono, inoltre, come già accennato, numerose varianti istologiche del m. Il m. *microcistico*, o «umido», macroscopicamente lucente e spesso cistico, istologicamente mostra citoplasma chiaro e vacuolizzato delle cellule ed accumulo di liquido extracellulare. Il m. *secretorio* mostra metaplasia ghiandolare, evidenziata da formazione di acini contenenti inclusioni ialine ed eosinofile, PAS-positive, varianti in grandezza da 3 a 100 μm, denominate corpi pseudo-psammomatosi. Il m. *a cellule chiare* (ricco di glicogeno), piuttosto raro, contiene masse di cellule poligonali il cui citoplasma è chiaro, pieno di glicogeno; questa forma deve essere differenziata dalla metastasi di carcinoma renale. Il m. *mixomatoso*, o mixoide, è composto da cellule multipolari stellate, nel contesto di una sostanza mucinosa.

Il m. *linfo-plasmocitoide* contiene una marcata infiltrazione di linfociti e di plasmacellule e vi si osservano follicoli con centri germinativi, corpi di Russell e depositi di sostanza amiloide; questa varietà è associata ad iperglobulinemia policlonale. Il m. *cordoide*, infine, a causa della struttura lobulare e della presenza di sostanza mucinosa rassomiglia al cordoma; in esso si può rinvenire un'infiltrazione di linfociti e plasmacellule.

In alcuni m. è presente una variabile quantità di pigmento melaninico ed occorre differenziare questo tipo dal melanoma primitivo delle leptomeningi. Non si deve dimenticare, infine, che nel m. si possono ritrovare metaplasia cartilaginea ed ossea, ampie bande di degenerazione ialina e cellule a nucleo gigantesco, bizzarro ed ipercromatico.

Nella grandissima maggioranza, il m. è benigno e a crescita molto lenta. Meno del 5% dei m. ha un comportamento maligno, con possibilità di recidive a breve termine e di metastasi cerebro-spinali ed extracraniche. I criteri istologici di malignità in uno dei tipi suddescritti si basano sull'abbondanza delle figure mitotiche, oltre che sulla ipercellularità, lo spiccato pleomorfismo delle cellule, la multinucleazione, l'ipercromasia e l'anaplasia nucleare, la prominenza dei nucleoli, la diminuzione del rapporto nucleo-citoplasmatico, piccoli focolai infiammatori, l'infiltrazione del parenchima nervoso.

Vi sono, inoltre, due varietà di m. a comportamento aggressivo. Una, il m. *papillare* (fig. 1), mostra una struttura papillifera composta da papille perivascolari ricoperte da cellule a raggiera, con lunghi processi peri-vascolari; si osservano numerose mitosi, discreta cellularità, tendenza all'infiltrazione, rari vortici e corpi psammomatosi. Le recidive avvengono in circa il 50% dei casi e le metastasi in circa il 25%. Il 47% del m. papillare si manifesta in età giovanile. L'altra varietà è l'*emangiopericitoma* (fig. 2) delle meningi (o m. emangiopericitico), istologicamente simile a quello dei tessuti molli e dell'osso, formato da masse compatte di cellule poligonali, piuttosto pleomorfiche, con nucleo ipercromatico rotondo-cilindrico e scarso citoplasma; queste masse sono punteggiate da spazi vascolari a forma fessurale, con endotelio rigonfio o appiattito. Il reticolo argentofilo, ricchissimo, forma la parete dei vasi e si ramifica a circondare ogni cellula.

Per la variabilità del suo aspetto microscopico il m. pone talvolta problemi di diagnosi differenziale con diversi tumori, in particolare il carcinoma metastatico, i gliomi, lo schwannoma, il cordoma, lo xanto-fibroma, il paraganglioma.

Le tecniche di immunoistochimica, sviluppate nell'ultimo ventennio, hanno contribuito insieme ai classici metodi di colorazione all'identificazione dei tipi cellulari che

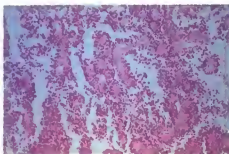



Fig. 1. M. papillare: struttura composta da papille perivascolari. Colorazione ematossilina-eosina.

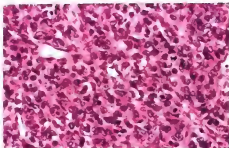



Fig. 2. Emangiopericitoma delle meningi. Colorazione ematossilina-eosina.

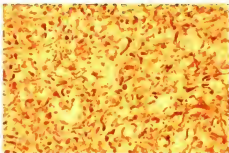



Fig. 3. Reattività immunoistochimica alla vimentina del m.





Digitized by Google

pongono i suddetti problemi. I m., incluso l'emangiopericitoma, mostrano una marcata positività per la *vimentina* (fig. 3), una proteina dei filamenti intermedi che è caratteristica delle cellule di origine mesenchimale, sia normali che neoplastiche. Va detto, peraltro, che l'immuno-reattività per la vimentina si trova pure in numerosi gliomi maligni e glioblastomi multiformi e che, quindi, non può costituire un criterio assoluto per differenziare m. e gliomi in assenza di altre prove.

Circa l'80% dei m. esprime i *markers* della differenziazione epiteliale, cioè l'EMA (*antigene epiteliale di membrana*) e le *citocheratine*; le varietà meningoteliale e sinciziale mostrano in particolare questa positività. La presenza delle citocheratine nei m. è stata interpretata come indicazione che le cellule del m. esibiscono alcuni caratteri epiteliali e, nel complesso, l'espressione concomitante della vimentina e delle citocheratine sembra riflettere la natura e la funzione dualistica delle cellule meningee. Altre proteine, quali la sottounità gamma (γ) della enolasineuronospecifica, la S-100, e, inoltre, l'isoenzima C della anidrasi carbonica, mostrano occasionale e locale reattività nei m. La G.F.A.P. (*Glial Fibrillary Acidic Protein*, proteina fibrillare acida della glia) ha mostrato reattività soltanto in rarissimi casi di m. papillari.

Il vero *sarcoma primitivo* delle meningi è piuttosto raro: esso può originare dalle cellule mesenchimali normalmente presenti nel sistema nervoso e cioè dalle cellule endoteliali dei vasi o dai fibroblasti perivascolari; il sarcoma può apparire in continuità con aree di m. di aspetto «tipico» e ha caratteristiche istocitologiche identiche a quelle dell'istiocitoma fibroso maligno: nel contesto di abbondante stroma di fibre reticolari e collagene sono presenti fasci di cellule fusate, ovvero pleomorfiche, multinucleate o gigantesche; le mitosi sono numerose. Il sarcoma si manifesta preferibilmente nell'età giovanile.

La microscopia elettronica del m. ha dimostrato alcune caratteristiche delle sue cellule: marcata interdigitazione dei plasmalemmi adiacenti, frequenti desmosomi, giunzioni serrate, filamenti intracitoplasmatici che formano dei vortici, ciglia ed inclusioni intranucleari ialine; inoltre si osservano abbondanti fibre collagene interstiziali.

**Bibliografia**

Burger P. C., Scheithausen B. W., Vogel F. S., *Surgical Pathology of the Nervous System and its Coverings*, 3 ed., 1991, Churchill-Livingstone, Edinburgh.
Enzinger F. M., Weiss S. W., *Soft Tissue Tumors*, 2 ed., 1988, Mosby, St. Louis.
Filipe M. I., Lake B. D., *Histochemistry in Pathology*, 2 ed., 1990, Churchill-Livingstone, Edinburgh.
Garcia J. H., Escalona-Zapata J., Sandbank U., *Diagnostic Neuropathology*, 1988, vol. I, MacMillan, New York.
Jurow C., Walter G. F., *Clin. Neuropathol.*, 1991, **10**, 37.
Perentes E., Rubinstein L. J., *Arch. Path. Lab. Med.*, 1987, **111**, 796.
Russel D. S., Rubinstein L. J., *Pathology of Tumours of the Nervous System*, 5 ed., 1989, Arnold, London.
Scaravilli F., *Comunicazione personale*, 1991.
Scheithauer B. W., *Acta Neuropathol.*, 1990, **80**, 343.
Zulch K. J., *Brain Tumors*, 3 ed., 1986, Springer, Berlin.

CARMELA TORRE

## MENINGITI [v. vol. IX, col. 856]

SOMMARIO



Del meningismo e delle meningiti si è esaurientemente trattato nei capitoli della II edizione dedicati a questi argomenti (v. MENINGISMO; MENINGITI); scopo di questa breve appendice è di dare un aggiornamento su cognizioni riferibili a questa materia acquisite in quest'ultimo decennio.

**Etiopatogenesi**

Innanzi tutto va sottolineata una maggiore diversificazione degli agenti etiologici causa di processi infiammatori a livello delle leptomeningi. Ciò dipende da diversi fattori tra cui ad es.: *a*) l'utilizzo di interventi diagnostico-terapeutici maggiormente invasivi che, mediante salto di barriera, mettono in contatto sempre più frequentemente microrganismi facenti parte della flora commensale o dell'ambiente esterno con strutture interne del nostro organismo; *b*) la sopravvivenza di numerosi soggetti immunodepressi facilmente suscettibili a questi germi cosiddetti «opportunisti»; *c*) l'acquisizione di tecniche molto sofisticate capaci di ampliare le possibilità diagnostiche. Tra questi agenti etiologici opportunisti alcuni sono ormai un reperto usuale, altri invece vengono evidenziati ancora sporadicamente e questo riguarda sia gli schizomiceti che gli altri possibili agenti infettivi.

Per quanto riferito, anche se le forme a etiologia micotica, protozoaria e virale, divenute in questi anni più frequenti, hanno assunto in tal modo una maggiore importanza, tuttavia la severità dei processi a esse correlati nella maggioranza dei casi dipende non da localizzazione meningea pura, ma piuttosto da compartecipazione o estensione del processo infettivo dal o al tessuto nervoso centrale, con quadri di meningoencefalite o meningomielite.

Ciò che invece ha maggiormente colpito gli studiosi della materia è che la prognosi delle forme a etiologia batterica è ancora gravata da un non accettabile tasso di letalità e, in caso di sopravvivenza, da una frequenza elevata di sequele neurologiche, talvolta estremamente invalidanti; e questo nonostante la disponibilità di farmaci antibatterici fortemente attivi a livello del S.N.C., sia per le elevate concentrazioni *in situ*, sia per i tempi brevi di batteriocidia.

Per questa ragione l'interesse dei ricercatori si è rivolto, in questi ultimi anni, non tanto a studiare le strategie per eliminare gli agenti patogeni delle m., ma a ricercare la causa del concomitante danno al tessuto nervoso. Si è così appurato che la sindrome meningea, quale espressione di un'aumentata pressione endocranica, è legata non solo a un'alterazione quantitativa e qualitativa del liquido cefalorachidiano, ma anche a un concomitante edema cerebrale che trova spiegazione in almeno tre componenti.

Innanzi tutto esiste un'alterazione vascolare con formazione di vere e proprie brecce a livello delle giunzioni strette endoteliali dei vasi cerebrali, da cui dipende la funzionalità della barriera ematoencefalica che viene così, almeno in parte, a decadere, permettendo ad es. il passaggio dell'albumina negli spazi interstiziali. Ad essa si associa una componente sempre interstiziale dell'edema cerebrale, correlata all'ipertensione liquorale. Questa situazione che trae origine sia da disfunzioni dei villi aracnoidei incapaci di controbilanciare l'ipersecrezione di liquor, sia da ostruzione degli spazi subaracnoidei a opera di coaguli di fibrina, di cellule della serie bianca e di proteine e macromolecole varie, finisce in tutti i casi con il provocare nella sostanza bianca sottostante all'ependima un'infiltrazione di liquor con accumulo di acqua e ioni sodio, visibile anche alla tomografia computerizzata (TC) sotto forma di una particolare lucentezza acquisita in tale sede dalla sostanza bianca stessa. Se poi, come nel caso della toxoplasmosi connatale, all'acqua e al sodio si uniscono, favoriti dal blocco della circolazione liquorale, antigeni dell'agente etiologico, segue una reazione infiammatoria su base immune, spesso



Digitized by Google

documentata dalla comparsa nel tessuto di linee di calcificazione periventricolare.

Infine esiste anche una componente tossica legata alla presenza di sostanze rilasciate sia dai granulociti neutrofili, sia dagli stessi batteri in via di degenerazione che alterano le membrane esterne delle cellule cerebrali con accumulo intracellulare di $H_2O$ e conseguente edema cerebrale. A questo proposito va tuttavia osservato che alla componente citotossica dell'edema cerebrale forse concorrono con maggiore incisività alcuni stati di ipotonia extracellulare correlati sia a una secrezione anomala di ormone antidiuretico, sia, in altri casi, a una condizione di iponatriemia con valori inferiori a 135 mEq/l, caratteristica delle m. batteriche in età pediatrica.

In ogni modo l'esito finale è l'ipertensione endocranica, evidenziata dal quadro sindromico e causa prima della diminuzione del «flusso ematico cerebrale». Tale diminuito apporto ematico non è tuttavia diffuso a tutto l'encefalo, ma si limita in genere a ristrette aree corticali, risparmiando il bulbo e l'ipotalamo; inoltre, dove presente, provoca una situazione di anossia seguita da turbe del metabolismo glicidico con accumulo di lattati. Successivamente se il fenomeno si protrae, si assiste allora alla comparsa di focolai ischemici, causa possibile di reliquati e a volte anche dell'*exitus*.

Da quanto finora esposto emerge che il danno cerebrale in corso di m. batteriche trova la sua origine non tanto dalla presenza di batteri, né dalla loro attività moltiplicativa e neppure dal loro *killing* da parte delle difese organismiche o a seguito di terapie antibatteriche, ma piuttosto dalla fase immediatamente successiva al *killing* è cioè la lisi disintegrativa del microrganismo. Infatti in concomitanza a essa si ha l'accumulo sia nel liquor sia nei tessuti cerebrali viciniori di prodotti di derivazione batterica capaci di stimolare la componente fosfolipidica delle membrane cellulari dell'ospite inducendo così la formazione di ac. arachidonico, *primum movens* della risposta infiammatoria.

Conferme a questa ipotesi vengono anche dall'osservazione clinica delle m. batteriche e precisamente:

possibilità di dosare nel liquor di m. batteriche la prostaglandina $E_2$, l'interleuchina 1β e il *tumor necrosis factor* (TNF) anche in funzione delle terapie utilizzate; la interleuchina 1β è stata dosata con metodo immunoenzimatico nel liquor di pazienti con infezione da HIV; il TNF non viene riscontrato in caso di m. virali;

osservazione di un precoce, anche se generalmente breve, intensificarsi della sintomatologia neurologica a seguito della prima dose di antibiotico;

diversificazione di tali risposte in funzione dell'agente causale e precisamente: estremamente intensa e con frequenti reliquati, anche in età adulta, per il pneumococco, in contrapposizione alla modesta reattività dimostrata nelle m. da meningococco e da *Haemophilus influenzae*, che usualmente liberano endotossina durante la loro fase di accrescimento, confermando così l'importanza del rilascio non solo massivo, ma anche improvviso di metaboliti batterici che non permette all'organismo una risposta infiammatoria modulata.

**Tecniche diagnostiche**

Anche se quanto appena detto sembra adombrare altre possibilità terapeutiche, purtuttavia la terapia antinfettiva specifica resta sempre di primaria importanza e, di conseguenza, emerge la necessità di diagnosi precise e quanto più possibile rapide. Infatti, pur escludendo i virus le cui risposte colturali sono sempre troppo tardive, anche per le altre etiologie il semplice isolamento colturale senza prove di sensibilità richiede come minimo uno-due giorni, che nel caso particolare delle m. risulta già un tempo troppo lungo.

Ciò non esclude che gli esami colturali, la tipizzazione dell'agente isolato e le prove di sensibilità debbano essere fatti anche se la loro finalità sarà volta soltanto a confermare o modificare la scelta terapeutica; in un secondo tempo la loro ripetizione servirà a dare la certezza della guarigione.

Se si sospetta un pretrattamento antibiotico alcuni preferiscono eseguire il PAR-test® per evidenziare il potere antibiotico residuo in modo da avere la certezza in caso di negatività colturale; a nostro parere, se, come normalmente avviene, non è possibile dilazionare il prelievo, è utile contattare il laboratorio per organizzare l'uso di metodiche alternative.

Al momento della diagnosi clinica e liquorale di m. risultano particolarmente utili, e soprattutto importanti per la rapidità di risposta, metodi differenti, atti a mettere in evidenza antigeni o altre componenti dell'agente etiologico, oppure ad evidenziare nel liquor enzimi o altre sostanze che rivelino un profondo interessamento del nevrasse con situazione di rischio per il paziente.

Tra le metodiche atte a evidenziare antigeni batterici, in genere di tipo capsulare, e normalmente utilizzate per *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, ricordiamo l'immunoelettroforesi su piastrina, la coagglutinazione, l'agglutinazione al lattice e più recentemente il metodo immunoenzimatico. Esse hanno il vantaggio di poter essere eseguite, oltre che sul liquor, anche su altri liquidi biologici, quali il siero e le urine, di persistere anche in corso di terapia con possibilità di conferme diagnostiche relativamente tardive e infine, basandosi sulle concentrazioni liquorali antigeniche, di poter emettere giudizi prognostici *quoad valetudinem* e insieme, seguendo l'andamento nel tempo di tali valori, controllare l'evoluzione favorevole della malattia stessa.

Per inciso si ricorda che il liquor contaminato da soluzioni antisettiche di povidone-iodio (D'Amato *et al.*, 1990), usate per la disinfezione della cute durante la rachicentesi, può dare false positività con i test di agglutinazione al lattice; sono «curiosità», ma rammentano come ogni gesto del medico debba sempre essere ponderato.

Esistono quindi una serie di metodiche, più o meno recenti, la cui esecuzione richiede laboratori attrezzati, ma soprattutto personale qualificato.

La meno recente tra esse è la gascromatografia che permette di individuare su campioni biologici il profilo degli acidi grassi caratteristici dei diversi agenti patogeni, documentando così la loro presenza; tale metodica è stata usata in particolare per *N. meningitidis*, *Str. pneumoniae*, *H. influenzae*, *Staphylococcus* spp., *Mycobacterium tuberculosis*, *Candida* spp., *Cryptococcus neoformans*, *Toxoplasma gondii* e altri ancora.

Molto più recenti sono invece le tecniche di immunoblotting (v. BLOTTING*) (Boucquey *et al.*, 1990) e PCR (v.*) (Kaneko *et al.*, 1990; Rotbar, 1990) in genere utilizzate per l'individuazione di agenti particolarmente «difficili» da diagnosticare o che richedono tempi lunghi per il loro isolamento; tali test sono stati fino a ora utilizzati per il *M. tuberculosis*, per i miceti e in particolare per i virus, prospettando così per il futuro un utilizzo valido dei farmaci antivirali a disposizione.

Vanno poi rammentati alcuni test, non diagnostici per l'etiologia, ma atti a informare sull'entità dell'eventuale danno encefalico e quindi sul rischio effettivo di sequele. A questo proposito, tenendo conto dei dati emersi nella trattazione della patogenesi, può risultare utile, in particolare nelle forme a etiologia batterica, sia l'esecuzione del test





Digitized by Google

del lattato, sia soprattutto il dosaggio degli aminoacidi, la cui presenza nel liquor documenta, come dimostrato, la loro provenienza dal tessuto cerebrale e non dalle cellule della serie bianca né dall'elevata proteinorrachia. Stesso significato prognostico ha anche il dosaggio, sempre sul liquor, dell'endotossina (che non correla coi valori sierici) e dell'interleuchina 1β.

Da ultimo vanno menzionate le cosiddette tecnologie per immagini, quali la risonanza magnetica nucleare (RMN), la tomografia computerizzata (TC) e l'ecografia cerebrale che, soppiantando altre metodiche invasive meno ripetibili, sono andate affermandosi in questi ultimi 10-15 anni, diventando anche in questo campo della patologia un supporto indispensabile per la diagnosi di m. Per loro merito siamo riusciti a diagnosticare le ventriculiti, le fasi iniziali dell'idrocefalia, la presenza di blocchi del flusso liquorale e il loro posizionamento, la valutazione dell'interessamento cerebrale, la presenza di ascessi cerebrali e tubercolomi, la atrofia cerebrale, la porencefalia e, infine, i versamenti sottodurali.

**Terapia**

Per quanto riguarda la terapia le novità riguardano essenzialmente le infezioni batteriche e, in considerazione delle recenti acquisizioni in tema di patogenesi, accanto a una terapia etiologica specifica, si è affermata con analoga importanza la terapia di supporto, soprattutto nel tentativo di modificare l'evoluzione di questa patologia particolarmente impegnativa che ancor oggi, nei nostri paesi a elevato livello socio-economico, incide per le forme batteriche con un tasso di letalità del 10%, e del 20% per quanto concerne le sequele neurologiche.

Innanzi tutto per impostare un'efficiente terapia di tipo antibatterico è necessario ricordare che l'esistenza di barriere tra il torrente sanguigno e il nevrasse (barriera ematoencefalica ed ematomeningea), oltre a influire sull'arrivo dei farmaci prescelti, fa sì che a questo livello anche le difese umorali e cellulari risultino ridotte, permettendo così agli agenti infettivi una maggiore capacità replicativa. In tali condizioni per ottenere un'efficace azione battericida è necessario raggiungere *in situ* una concentrazione di chemioantibiotico dell'ordine di almeno 10 volte la minima concentrazione battericida (MBC: *Minimal Bactericidal Concentration*) dosata *in vitro*.

Si inizia sempre con una terapia ragionata, strettamente correlata ai tempi e ai luoghi, preferendo la via endovenosa e molecole con basso rapporto MIC/MBC (MIC: *Minimal Inhibitory Concentration*); inoltre si utilizzano dosaggi pieni mantenuti fino alla guarigione per non risentire della normalizzata barriera emato-meningea.

Ricordiamo che le etiologie delle m. batteriche tendono a distribuirsi in funzione dell'età secondo il seguente schema:

| | |
|---|---|
| 1 mese | Streptococchi di gruppo B, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* |
| 1-6 mesi | *Enterobacteriaceae*; *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* |
| 6 mesi-18 anni | *Streptococcus pneumoniae*; *Haemophilus influenzae*; *Neisseria meningitidis* |
| 18 anni-50 anni | *Streptococcus pneumoniae*; *Neisseria meningitidis* |
| > 50 anni | *Streptococcus pneumoniae*; *Neisseria meningitidis*; *Listeria monocytogenes*. |

Ne consegue che, in linea di massima, si può consigliare come terapia iniziale (Tunkel e Scheld, 1989), eventualmente da modificare in un secondo tempo:

| | |
|---|---|
| fino a 6 mesi | ampicillina + aminoglicoside (amikacina), oppure ampicillina + cefalosporina III generazione (cefotaxim), secondo gli AA. americani; |
| oltre i 6 mesi | ampicillina + cloramfenicolo e/o inibitori delle betalattamasi. |

Se l'etiologia invece è stafilococcica, i farmaci elettivi sono rifampicina e/o vancomicina oppure teicoplanina o cotrimossazolo; in caso infine di enterobatteri, *Pseudomonas* o altri opportunisti, come pure nelle sovrainfezioni di *shunts* impiegati nel trattamento dell'idrocefalia, è utile associare un aminoglicoside a una cefalosporina (ad es. cefotaxim), riservandosi poi di controllare la loro attività *in vitro*, e rammentando, specie negli *shunts*, la possibilità di infezioni da miceti.

Infine per completare la trattazione della terapia specifica delle m. è opportuno aggiungere alcune brevi, ma importanti annotazioni:

le m. brucellari, essendo espressione di fase cronica di malattia, potrebbero essere evitate trattando il paziente in fase acuta secondo i dettami dell'OMS e cioè con l'associazione di due antibiotici a penetrazione endocellulare, quali rifampicina e monociclina, per un periodo di almeno 5-6 settimane;

nel trattamento delle forme meningitiche tubercolari (Jannuzzi, 1980), si può considerare la possibilità di abbreviare i tempi di terapia a patto di tenere presente nelle associazioni e nei tempi le modalità di azione dei diversi chemioantibiotici utilizzati: attività intra- e/o extracellulare, attività preferenziale su micobatteri in attiva o modesta o saltuaria o assente replicazione, azione batteriostatica o battericida con le dosi utilizzate, indici di penetranza, tempi minimi di contatto per esplicare la propria azione, possibili resistenze, tossicità;

in caso di tubercolomi cerebrali, che possono complicare una m., si dimostra particolarmente attiva l'associazione isoniazide-etionamide che permette il sommarsi degli effetti utili evitando, nello stesso tempo, la somma di quelli indesiderati;

al corredo farmacologico attivo sulle micosi si è aggiunto recentemente il fluconazolo, derivato triazolico (v. ANTIMICOTICI*), utilizzabile in unica somministrazione giornaliera, sia per via orale che endovenosa. Rispetto all'anfotericina B si presenta più maneggevole e meno tossico, con buona attività verso *Candida* spp. e *Cryptococcus neoformans*; tuttavia la tendenza delle infezioni criptococciche, soprattutto nell'AIDS, a recidivare ed estendersi all'encefalo fanno propendere anche in questo caso per una terapia di mantenimento senza limiti definibili (Larsen *et al.*, 1990; Sugar *et al.*, 1990).

La terapia specifica, come è stato già accennato in precedenza, tranne forse in alcune m. virali, se uccide l'agente patogeno, non è però capace di distruggerlo ed eliminarlo senza innescare una reazione infiammatoria nociva per l'ospite: di conseguenza evitare o limitare questo danno è compito della terapia di supporto. A questo fine da alcuni anni si usa associare alla terapia antibiotica il desametasone (Lebel *et al.*, 1988; Täuber e Sande, 1989; Roos, 1990) che, impedendo la formazione delle diverse citochine responsabili dell'infiammazione, sembra ridurre, almeno nell'esperienza pediatrica, l'incidenza delle sequele. Le dosi utilizzate a tale scopo sono di 3 mg/m² ogni 6 h, per una durata massima di 5-6 giorni.

Ritenendo ostica l'idea di associare un farmaco proinfettivo a un antibiotico, alcuni AA. hanno proposto l'uso di anticorpi monoclonali verso le citochine dell'ospite o verso





Digitized by Google

i recettori di adesività dei neutrofili e la selezione di antibiotici battericidi non litici che potrebbero, a loro parere, costituire la terapia di un prossimo futuro.

Altri campi non meno importanti della terapia di supporto (Kaplan e Fishman, 1987) sono la correzione della iponatriemia e dell'increzione di ormone antidiuretico con la restrizione controllata dei fluidi in soggetti non disidratati, nonché il controllo dell'ipertensione endocranica sia con manovre di iperventilazione assistita, sia con le infusioni di mannitolo.

Da ultimo, tra i vari presidi della terapia di supporto si ritiene doveroso menzionare un sistema di derivazione liquorale esterna a lunga durata (fino a 6-7 mesi) senza formazione di fistola liquorale e quindi senza contaminazioni (Andreussi, Jannuzzi *et al.*, 1989). Tale sistema, messo a punto presso il Servizio di Neurochirurgia dell'Istituto G. Gaslini di Genova da oltre 15 anni, ci ha permesso, in numerosi casi, la sterilizzazione di colonizzazioni multiple, da germi multiresistenti in *shunts* liquor-atriali o liquor-peritoneali, come pure la risoluzione di casi di idrocefalo evolutivo, secondario a m. (neonatale o tubercolare), nei quali si è ottenuta non solo la guarigione batteriologica, ma anche, in circa la metà dei pazienti, la ripermeabilizzazione delle vie liquorali.

Per la meningoradicolite da *Borrelia burgdorferi* si rinvia alle voci LIQUOR* e LYME, MALATTIA DI*.

Per le affezioni del S.N.C. da virus HIV si rinvia alle voci ENCEFALITI*, LIQUOR* e SINDROME DA IMMUNODEFICIENZA ACQUISITA*.

Per l'identificazione degli anticorpi antivirali, antibatterici e antiparassitari nel liquor, si rinvia alle voci LIQUOR; LIQUOR*.

**Bibliografia**


Andreussi L., Jannuzzi C. *et al.*, *La derivazione liquorale esterna di lunga durata: le sue indicazioni in ambito infettivologico sotto i tre anni. Atti del XXV Congr. Naz. Soc. It. Studio Mal. Infett. e Parass.*, Roma, 10-14 ottobre 1989, p. 177.

Aujard Y., Carrière J. P., *Arch. Fr. Pediatr.*, 1990, **47**, 479.

Bonadio W. A., Mannenbach M. *et al.*, *Am. J. Dis. Child*, 1990, **144**, 463.

Boucquey D., Chalon M. P. *et al.*, *J. Neurol.*, 1990, **237**, 285.

D'Amato R. F., Hochstein L. *et al.*, *J. Clin. Microbiol.*, 1990, **28**, 2134.

Jannuzzi C., *Ped. Med. Chir.*, 1980, **2**, 601.

Jannuzzi C., Terragna A., *Giorn. Mal. Infett. Parass.*, 1983, **35**, 1145.

Joubert J., *S. Afr. Med. J.*, 1990, **77**, 528.

Kaneko K., Onodera O. *et al.*, *Neurology*, 1990, **40**, 1617.

Kaplan S. L., Fishman M. A., *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 1987, **6**, 670.

Kumar A., Devlin H. R. *et al.*, *Rev. Infect. Dis.*, 1990, **12**, 440.

Larsen R. A., Leal M. A. *et al.*, *Ann. Intern. Med.*, 1990, **113**, 183.

Larsen C. S., Bjerager M., *Scand. J. Infect. Dis.*, 1990, **22**, 327.

Lebel M. H., Freij B. J. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1988, **319**, 964.

Martin E., Hohl P. *et al.*, *Infection*, 1990, **18**, 70.

Mendelman P. M., Chaffin D. O. *et al.*, *J. Infect. Dis.*, 1990, **162**, 1118.

Minton E. J., *Postgrad. Med. J.*, 1990, **66**, 125.

Nelson M. R., Bower M. *et al.*, *J. Infect.*, 1990, **21**, 175.

Roos K. L., *Clin. Ther.*, 1990, **12**, 290.

Rotbar H. L., *J. Pediatr.*, 1990, **117**, 85.

Sugar A. M., Stern. J. J. *et al.*, *Rev. Infect. Dis.*, 1990, **12** (Suppl. 3), 338.

Täuber M. G., Sande M. A., *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 1989, **8**, 842.

Tucker R. M., Galgiani J. N. *et al.*, *Rev. Infect. Dis.*, 1990, **12** (Suppl. 3), 380.

Tunkel A. R., Scheld W. M., *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.*, 1989, **10**, 565.

Tuomanen E., *Advances in the diagnosis and manegement of bacterial meningitis*, in *Current Opinion in Infect. Dis.*, 1990, **3**, 596.

Wenger J. D., Hightower A. W. *et al.* and Bacterial Meningitis Study Group, *Report of a Multistate Surveillance Study*, in *J. Infect. Dis.*, 1990, **162**, 1316.


CLOTILDE MARIA JANNUZZI

## MENISCHI E LEGAMENTI

F. *ménisques; ligaments.* - I. *meniscus; ligaments.* - T. *Meniskus; Ligamenta.* - S. *meniscos; ligamentos.*

SOMMARIO



### Introduzione

Nelle articolazioni, la capsula ed i legamenti svolgono una funzione di stabilizzazione passiva (V. ARTICOLAZIONI).

Ai fini della funzione articolare principale, che è quella di consentire il movimento dei vari segmenti dello scheletro, è di fondamentale importanza la perfetta congruenza delle superfici di scorrimento. La funzione dei l. è quella di conservare i rapporti fisiologici ottimali tra i capi articolari durante tutto l'arco del movimento mantenendo stabile l'articolazione senza per questo limitarne il grado di libertà. Quando le superfici articolari non combaciano perfettamente, i menischi, formazioni fibrocartilaginee intrarticolari (V. ARTICOLAZIONI [II, 1038]), contribuiscono alla congruenza tra i componenti dell'articolazione, riempiendo a guisa di cuscinetti lo spazio vuoto. In tale modo si amplia la superficie di carico dei capi articolari e la migliore distribuzione dei pesi protegge la cartilagine articolare dai fenomeni di usura.

Le alterazioni traumatiche o degenerative dei m. e dei l. sono spesso responsabili di specifici quadri patologici, i più importanti dei quali vengono qui di seguito trattati. Ulteriori notizie sull'argomento sono riportate alle voci: ARTICOLAZIONI (II, 1023); GINOCCHIO (VII, 219); GINOCCHIO* (3387); SPORT, MEDICINA DELLO (XIV, 831).

### Patologia dei menischi del ginocchio

Nell'affrontare la patologia meniscale del ginocchio è necessario attenersi ad alcuni criteri di classificazione che tengono conto soprattutto del meccanismo traumatico responsabile delle lesioni e della frequente associazione tra lesioni meniscali e lesioni capsulolegamentose (fig. 1).

*Lesioni meniscali traumatiche*

Il meccanismo traumatico è generalmente costituito da un asincronismo tra il movimento di flesso-estensione del ginocchio e quello di rotazione della tibia rispetto al femore. Va ricordato che: nella flessione il m. interno è attratto posteriormente dal muscolo semimembranoso ed il m. esterno dal popliteo (10-15 mm); nella estensione entrambi sono attratti anteriormente; in rotazione interna il m. interno va posteriormente ed il m. esterno anteriormente, nella rotazione esterna avviene il contrario.

Nella rotazione esterna della tibia rispetto al femore, frequentemente associata ad una sollecitazione in valgismo (VRE: valgismo rotazione esterna), è il m. interno ad essere più frequentemente interessato da una lesione longitudinale: questa in genere ha origine dal corno posteriore (figg. 2 e 3), ma può ampliarsi sino ad assumere l'aspetto del cosiddetto «manico di secchio» il quale, lussandosi nella gola intercondiloidea, provoca il caratteristico blocco dell'estensione (fig. 4).





Digitized by Google

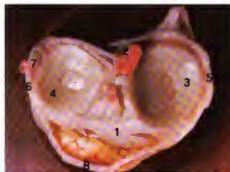



Fig. 1. Anatomia normale dei m. e l. del ginocchio (cavità glenoidea della tibia destra vista dall'alto). 1) L. crociato anteriore. 2) L. crociato posteriore. 3) M. interno. 4) M. esterno. 5) L. collaterale mediale. 6) L. collaterale laterale. 7) Tendine del popliteo. 8) Tendine rotuleo.

Fig. 4. Visione artroscopica di lesione a «manico di secchio» del m. interno.

Fig. 5. Visione artroscopica di lesione a *flap* del m. interno.

Fig. 2. Lesione del corno posteriore del m. interno destro.

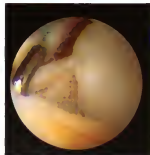



Fig. 3. Lesione del corno posteriore del m. interno (visione artroscopica; ottica 70°).

Il m. esterno, data la sua maggiore mobilità, è meno frequentemente interessato da lesioni in valgismo-rotazione esterna; nella maggior parte dei casi, la lesione è radiale a carico del terzo medio (queste lesioni possono associarsi a quella del l. collaterale interno e del l. crociato anteriore).

Nella rotazione interna della tibia rispetto al femore, generalmente associata ad una sollecitazione in varismo (VRI: varismo rotazione interna), è invece il corno posteriore del m. esterno a subire più frequentemente una lesione, generalmente longitudinale, e non a tutto spessore; quando in tale sollecitazione si verifica la rottura del l. crociato anteriore (v. sotto) si riscontra frequentemente anche la lesione periferica longitudinale del corno posteriore del m. interno, quasi mai riscontrabile isolatamente.

Nell'iperestensione, nella ricaduta da salto in appoggio monopodalico e nello stop in corsa le lesioni meniscali sono assai raramente isolate; interessano generalmente il corno posteriore del m. interno e più raramente quello del m. esterno.

Il passaggio dalla posizione accosciata a quella eretta è un «classico» meccanismo di rottura meniscale: essa è legata alla mancata rotazione della tibia fissa al suolo durante l'estensione del ginocchio; la lesione è generalmente longitudinale del tipo a «manico di secchio» ed interessa più frequentemente il m. interno.

*Lesioni meniscali degenerative*

Questo tipo di lesione è sostenuto dal processo di degenerazione che interessa i m. (*meniscosi*), mentre nel soggetto sano si verifica in età adulta o senile senza dar luogo a vere e proprie manifestazioni patologiche, in alcuni casi, o per l'alterazione dell'asse di carico del ginocchio (varismo-valgismo) o per un sovraccarico del compartimento femorotibiale corrispondente, dà luogo a lesioni cosiddette «orizzontali». Queste interessano gran parte della compagine meniscale interna od esterna e, allorché ad essa si associ in seguito ad uno o più traumi ripetuti la formazione di una lesione a lembo libero (*flap*) (fig. 5), compare la sintomatologia dolorosa caratteristica della sindrome meniscale che richiede il trattamento chirurgico artroscopico.

Le *cisti meniscali* ed in specie quelle del m. esterno (9 volte più frequenti rispetto a quelle del m. interno) possono costituire un tipo di evoluzione delle lesioni degenerative; la cisti meniscale esterna, infatti, è sempre piena di materiale mucoide e comunica con il m. esterno che appare costantemente interessato da lesione a volte radiale, ma più spesso orizzontale (fig. 6).





Digitized by Google

Fig. 6. Risonanza magnetica nucleare di cisti meniscale esterna (*freccia*).

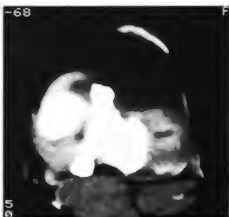



Fig. 7. Immagine T.A.C. di m. esterno discoide con lesione radiale.

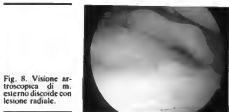



Fig. 8. Visione artroscopica di m. esterno discoide con lesione radiale.

Il *m. esterno discoide* è un'entità nosologica a sé stante di natura congenita. Se ne possono riscontrare 3 varietà (I tipo, II tipo, III tipo o di Wrisberg) (fig. 7). In tutti i casi il m. è di dimensioni esuberanti rispetto alla norma e si interpone tra femore e tibia in ogni movimento di flesso-estensione, esponendosi prima o poi ad una rottura radiale che ne isola un lembo più o meno grande: la sua dislocazione crea la sintomatologia dolorosa e reattiva sinoviale che porta all'indicazione chirurgica (fig. 8).

*Diagnosi*

La diagnosi di lesione meniscale non è sempre agevole: esclusi i casi di blocco articolare in flessione irriducibile o recidivante, in cui è facile porre diagnosi di lesione «a manico di secchio» del m. interno, va detto che non sempre vi è corrispondenza tra sintomi e segni da una parte (dolorabilità alla digitopressione sull'emirima articolare corrispondente, positività dei test di iperestensione e di intrarotazione o di extrarotazione, anamnesi comprendente sensazioni di blocco articolare e idrartri recidivanti) e reale patologia meniscale dall'altra.

Prima di giungere ad un'artroscopia, risolutiva sul piano sia diagnostico che terapeutico, ma pur sempre da considerare vero atto chirurgico (come tale da eseguirsi sempre in anestesia, generale o periferica) è possibile oggigiorno avvalersi di esami strumentali altamente attendibili come la ecografia, la T.A.C. e, più ancora, la RMN; quest'ultima permette un approccio mutiplanare (proiezioni assiali, coronali, sagittali) e data la sua elevata sensibilità riesce a cogliere non solo le lesioni a tutto spessore (grado 3), ma anche le lesioni interstiziali del tessuto meniscale (grado 1 e 2) guidando così nel modo migliore la successiva ricerca in artroscopia (v.* [col. 845]).

*Trattamento*

Il trattamento d'elezione di tutte le lesioni meniscali (isolate) è quello chirurgico-artroscopico. L'artroscopia permette non solo la completa ed accurata diagnosi della lesione meniscale, ma anche e soprattutto il suo trattamento. Avvalendosi della via d'accesso anterolaterale (o, in alternativa, transtendinea) per l'artroscopio, anteromediale per il palpatore e la strumentazione chirurgica (o di eventuali vie d'ingresso accessorie: superomediale, superolaterale, posteromediale), è possibile asportare le porzioni lese (lesioni longitudinali a manico di secchio, tipo *flap*, radiali) e regolarizzare il residuo meniscale, tempo quest'ultimo particolarmente importante in caso di danno a componente degenerativa e nel m. esterno discoide.

Nelle cisti meniscali esterne, al trattamento artroscopico della lesione meniscale segue la decompressione della cisti attraverso una piccola incisione eseguita sulla guida di un ago da spinale artroscopicamente posizionato. Nelle lesioni





Digitized by Google

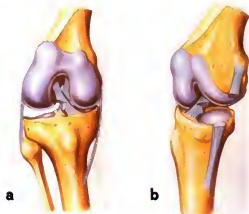



Fig. 9. I meccanismi traumatici delle lesioni capsulolegamentose. *a*) Varismo-rotazione interna (VRI); *b*) valgismo-rotazione esterna (VRE); *c*) iperestensione; *d*) lacerazione da brusca contrazione quadricipitale.

periferiche a tutto spessore del corno posteriore del m. esterno e di quello interno, generalmente associate alla lesione del l. crociato anteriore, in sede di ricostruzione di quest'ultimo è possibile eseguire la sutura meniscale. Tale procedura può essere eseguita sotto controllo artroscopico o a cielo aperto. La scelta della tecnica dipende dal tipo, dall'estensione e dalla sede della lesione: in linea di massima è sempre preferibile la via artroscopica per il m. esterno; per l'interno è a volte necessario utilizzare una tecnica mista eseguendo una incisione posteromediale per salvaguardare le strutture vascolonervose limitrofe.

**Patologia legamentosa del ginocchio**

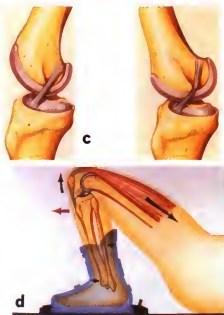
La patologia legamentosa del ginocchio ruota intorno alla presenza di lesioni a carico del l. crociato anteriore (instabilità rotatoria) o del posteriore (instabilità posteriore) o di entrambi i l. crociati (instabilità dirette) (fig. 9).

*Instabilità anteromediale*

Il trauma in valgismo e rotazione esterna della tibia rispetto al femore lede inizialmente il l. collaterale interno (fascio superficiale e fascio profondo, quest'ultimo costituito dai fasci menisco-femorale e menisco-tibiale) ed il l. posteriore obliquo (fig. 9, *b*).

Se gli effetti del trauma si arrestano a questo punto, l'esame obiettivo evidenzia positività del test di stress in abduzione e negatività degli altri test; se l'intensità è maggiore, la sublussazione anteriore del piatto tibiale esterno provoca la rottura del l. crociato anteriore.

L'esame obiettivo evidenzia un *Lachman test* positivo (fig. 10) e un *pivot-shift test* positivo (fig. 11), eseguibile peraltro con assoluta precisione diagnostica solo a paziente ben rilasciato. Positivo è anche il test di abduzione a 30°.

Il *Lachman test*, ideato da J. W. Lachman e reso noto da J. S. Torg nel 1976, consiste in una sollecitazione in direzione postero-anteriore della tibia rispetto al femore eseguita con il ginocchio in flessione a circa 15°, stabilizzando con una mano l'estremità distale del femore e portando con l'altra mano l'estremità prossimale della tibia in avanti. A l. crociato anteriore integro si avverte un netto «stop» dopo una breve dislocazione; quando il l. crociato anteriore è leso, la dislocazione è maggiore e non si avverte un arresto netto, bensì graduale (*soft*).

Il test può essere eseguito anche nei casi acuti e contempla, secondo i suoi ideatori, solo una distinzione tra test positivo (lesione totale) e negativo (integrità).

Il *pivot-shift test* è un test dinamico per la valutazione della instabilità del ginocchio in relazione alle lesioni capsulolegamentose. Si esegue a paziente supino sollecitando l'articolazione in flessione-valgismo-intrarotazione tibiale.

Nel ginocchio affetto da lesione del l. crociato anteriore, la manovra consente di apprezzare uno «scatto» articolare (*jerk*) nel





Digitized by Google

passare dalla completa estensione alla flessione, provocato dalla sublussazione anteriore del piatto tibiale esterno.

La sublussazione si riduce spontaneamente superati i 40° gradi di flessione. Per essere correttamente eseguito il *pivot-shift test* richiede che il paziente sia completamente rilasciato; viene interpretato assegnando alla gravità della instabilità articolare una valutazione da 1+ a 3+ in senso peggiorativo.

Nella lesione del solo l. collaterale mediale è sufficiente una semplice immobilizzazione per 20-30 giorni (a seconda della gravità della lesione) autorizzando contrazioni isometriche e movimenti di flessoestensione, con carico assistito dalla tutela dopo 15 giorni. Nelle lesioni del l. crociato anteriore (fig. 12) si impone l'intervento di ricostruzione sotto controllo artroscopico utilizzando, secondo la propria esperienza, il terzo centrale del tendine rotuleo libero oppure i due tendini del gracile e del semitendinoso, associando, ove necessario, la reinserzione meniscale (o la regolarizzazione delle lesioni meniscali meno ampie) e l'eventuale sutura terminoterminale dei fasci profondi del l. collaterale interno.

*Instabilità anterolaterale*

Nei traumi distorsivi in varismo e rotazione interna della tibia rispetto al femore, il l. crociato anteriore si «avvita» su se stesso e può rompersi al terzo medio per la sublussazione del piatto tibiale esterno (fig. 9, *a*). Quando il meccanismo traumatico non si esaurisce, si può avere la lesione della capsula anterolaterale (a volte con la classica frattura di «Segond» del margine superiore del piatto tibiale esterno) e la disinserzione del corno posteriore del m. interno e/o esterno.

L'esame obiettivo evidenzia in genere positività del *Lachman test* e del *pivot-shift test* (o *jerk test*) più evidente in rotazione esterna del ginocchio e dell'anca; il test di adduzione è generalmente negativo data l'integrità del punto d'angolo postero-esterno (P.A.P.E.) (instabilità anterolaterale).

Il trattamento consiste nella ricostruzione del l. crociato anteriore assistita per via artroscopica (con tendine rotuleo libero o con i tendini del gracile del semitendinoso) e nel trattamento (regolarizzazione o reinserzione) delle lesioni meniscali.

*Lesioni isolate del legamento crociato anteriore*

Le lesioni «isolate» del l. crociato anteriore possono essere provocate o da meccanismo di iperestensione, che porta la gola femorale a recidere il crociato (fig. 9, *c*) oppure da una brusca sollecitazione in avanti della tibia rispetto al femore, provocata da una improvvisa contrazione del quadricipite (fig. 9, *d*). Alla positività del *Lachman test* si accompagna una positività (in genere modesta) del *pivot-shift test*.

La ricostruzione del l. crociato anteriore si impone allorché la positività del *pivot-shift test* (*jerk test*) è rilevante, allo scopo di preservare i m. e le cartilagini da ulteriori lesioni.

*Lesioni combinate o complesse*

Le lesioni combinate anteromediali e anterolaterali originano in genere da un grave trauma in valgismo e rotazione esterna che oltre a provocare la lesione del compartimento mediale e del l. crociato anteriore, causa la totale sublussazione del piatto tibiale in avanti e conseguentemente la lesione periferica del corno posteriore del m. mediale e/o di quello laterale.

Obiettivamente, si evidenzierà la positività del *Lachman test* e del *pivot-shift test*, dell'abduzione a 30° di flessione e del test del cassetto anteriore in rotazione neutra ed in rotazione esterna; se coesiste la lesione periferica del corno posteriore del m. interno si può avvertire il classico «scatto» (segno di Finocchietto).

In questo grave tipo di instabilità si impone la ricostruzione del l. crociato anteriore (eventualmente associata ad un rinforzo extrarticolare) sotto controllo artroscopico e la reinserzione meniscale che va perseguita al massimo grado onde proteggere le cartilagini articolari.

Fig. 10. Esecuzione del *Lachman test*. Per la spiegazione, cfr. testo.

Fig. 11. *Pivot-shift test* (o *jerk test*). Per la spiegazione, cfr. testo.

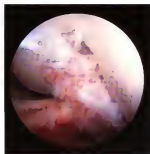



Fig. 12. Visione artroscopica del l. crociato anteriore lacerato.

*Instabilità posterolaterali*

Le instabilità posterolaterali del ginocchio associate alla lesione del l. crociato anteriore sono quasi sempre dovute a lesione del complesso arcuato (l. collaterale esterno, tendine del muscolo popliteo, l. arcuato e tendine del gemello esterno).

La causa è generalmente da ricercarsi in un trauma diretto portato dall'avanti all'indietro con la tibia in rotazione esterna. Obiettivamente il ginocchio si atteggia in varismo ed in recurvato. Si riscontra la positività del *Lachman test*, del *jerk test* (o *pivot-shift test*), del test di adduzione a 30°, del test del recurvato in rotazione esterna e del cassetto posterolaterale, pur con l. crociato posteriore integro.

In tale grave tipo di instabilità, alla ricostruzione del l. crociato anteriore si deve associare l'avanzamento del complesso arcuato per annullare la componente posterolaterale della instabilità.

*Instabilità posteriore*

La lesione del l. crociato posteriore può essere provocata da un trauma diretto portato con direzione anteroposteriore sull'estremità prossimale tibiale (ad. es. incidente sportivo o motociclistico) oppure da un trauma in iperestensione (senza componente rotatoria).

Nei casi più gravi (vere e proprie lussazioni di ginocchio) si ha la lesione associata dei l. crociati anteriore e posteriore (instabilità diretta) con lesioni periferiche e meniscali che richiedono tutte una riparazione chirurgica con reinserzioni e, nel caso dei l. crociati, sostituzione con tendini autologhi ed eventuali bandelle di rinforzo a lungo riassorbimento.

A l. crociato anteriore integro, la lesione del l. crociato posteriore può essere «isolata» o associata a lesioni delle strutture capsulolegamentose periferiche o dei m. Alla luce degli studi più recenti la lesione «isolata» del l. crociato posteriore appare responsabile al più di un'«insicurezza» soggettiva; obiettivamente si hanno un cassetto posteriore modesto o medio, a seconda della tenuta dei fasci (incostanti) di Humphry e Wrisberg e un cassetto anteriore in rotazione interna al più modicamente positivo (+). Le lesioni associate sono invece causa di vera instabilità: il cassetto posteriore è in genere gravemente positivo (fig. 13) e subentrano disturbi legati a patologie concomitanti, quali meniscopatie (in specie mediali), e condromalacie, rotulee e trocleari.

Fig. 13. Test del cassetto posteriore. Per la spiegazione, cfr. testo.

Il *test del cassetto posteriore* si esegue a ginocchio flesso tra i 70° e i 90°, sollecitando l'estremità prossimale della tibia in direzione antero-posteriore (inversamente che nel cassetto anteriore).

Può essere eseguito in rotazione esterna, neutra ed interna e viene valutato assegnando alla dislocazione posteriore una gradazione da 1+ a 3+ in senso peggiorativo. È indice di una lesione del crociato posteriore.

L'orientamento terapeutico attuale è la congrua riabilitazione delle lesioni «isolate», allo scopo di evitare soprattutto l'ipotonotrofia del quadricipite e le ipotonotrofie conseguenti a patologie condrali femoropatellari. Nelle lesioni associate si impone invece il trattamento artroscopico della patologia meniscale e condrale e la successiva riabilitazione. Solo nei casi più gravi è consigliato un intervento di trapianto autologo con i due tendini del gracile e del semitendinoso oppure con il terzo medio del tendine rotuleo. È essenziale associare sempre alla ricostruzione del l. crociato posteriore il trattamento della patologia articolare e periarticolare concomitante. È comunque difficile annullare totalmente il cassetto posteriore.

**Patologia legamentosa del collo del piede**

*Aspetti generali*

Il complesso articolare del collo del piede è formato dalle estremità distali delle due ossa della gamba, tibia e perone, e dalla cupola astragalica, che compongono due articolazioni: la tibioperoneale distale e la tibioperoneoastragalica o tibiotarsica. A completare l'entità anatomofunzionale della caviglia partecipa il calcagno con cui l'astragalo forma l'articolazione sottoastragalica del piede. A livello dell'articolazione tibiotarsica, l'astragalo è incastrato tra i due malleoli come un perno nel suo cardine. Il malleolo peroneale è saldamente ancorato alla tibia mediante i robusti l. tibioperoneali anteriore e posteriore (fig. 14).

Il tenone astragalico è trattenuto nel mortaio tibioperoneale dai due l. collaterali: dal l. deltoideo medialmente, e, sul lato esterno, dal l. collaterale esterno con i suoi tre fasci: peroneoastragalico anteriore, peroneocalcaneare e peroneoastragalico posteriore. La cupola astragalica è più ampia anteriormente che posteriormente per cui quando il piede è in flessione dorsale la stabilità articolare aumenta. La funzione stabilizzatrice del mortaio tibioperoneale è compromessa dalle fratture malleolari e dalle lesioni dei l. tibioperoneali e dei l. collaterali.

Le lesioni legamentose della caviglia sono spesso accomunate sotto il comune denominatore di «distorsioni». Va sottolineato, però, che la definizione «distorsione della caviglia» appartiene allo stesso ordine di precisione diagnostica dei termini: «ginocchio gonfio» e «braccio rotto». In effetti per distorsione si intende solitamente una lesione legamentosa parziale o completa.

Le lesioni legamentose parziali possono essere suddivise clinicamente in quelle in cui il danno è esteso ad un sufficiente numero di fibre da esitare in una perdita parziale della funzione stabilizzatrice e quelle in cui il danno interessa soltanto un esiguo numero di fibre senza interferire con la funzione (l'articolazione rimane stabile). La rottura del l. può avvenire nella compagine dei suoi fasci fibrosi, a livello della sua inserzione ossea o attraverso la struttura ossea a cui il l. è inserito (avulsione).

La gravità delle lesioni legamentose è spesso sottovalutata ed un trattamento inadeguato viene di solito giustificato da un generico: «è soltanto una distorsione». Si ignora in questo modo che le conseguenze di una grave lesione capsulolegamentosa possono essere più invalidanti di quelle di una frattura che è clinicamente, e soprattutto radiograficamente, assai più evidente; la tendenza perciò ad iden-





Digitized by Google

Fig. 14. Anatomia dei l. del compartimento esterno del collo del piede. È evidenziato il l. collaterale esterno con i suoi tre fasci: 1) peroneoastragalico anteriore; 2) peroneocalcaneare; 3) peroneo-astragalico posteriore.

tificare l'evidenza di una lesione con la sua gravità deve essere evitata per questa patologia.

*Lesioni del legamento collaterale esterno*

Sono le più comuni lesioni legamentose del collo del piede. Questo perché, rispetto alla possibilità di un trauma in eversione, è più alta la probabilità che si verifichi un trauma in inversione durante la deambulazione o la corsa (fig. 15). Risultano particolarmente frequenti nel secondo-terzo decennio di vita in accordo ad un più elevato livello di attività fisica e di richieste funzionali durante questi anni.

La maggior parte dei traumi di questo tipo avviene in adduzione forzata mentre il piede è atteggiato in flessione plantare. Il primo l. interessato dalla lesione è il fascio peroneoastragalico anteriore; se la forza lesiva non si esaurisce, il piede si porta in posizione neutra (rispetto alla flesso-estensione) ed è il l. peroneocalcaneare ad essere messo dapprima in tensione e poi stirato fino all'eventuale rottura.

Il l. peroneoastragalico posteriore non è quasi mai coinvolto poiché, oltre ad essere più largo e robusto degli altri due, è posto sotto la tensione solo nella flessione dorsale forzata del piede e tale atteggiamento non si verifica quasi mai nei traumi in adduzione. L'indagine anamnestica consente di risalire al meccanismo traumatico nella maggior parte dei casi e almeno un terzo dei pazienti racconta una storia di precedenti episodi distorsivi sempre a carico della stessa caviglia.

L'esame obiettivo rileva ovviamente la tumefazione, accompagnata, molto spesso, dalla presenza di un'ecchimosi,

Fig. 15. Meccanismo del trauma in inversione del collo del piede.

più o meno evidente, nella regione malleolare e perimalleolare fino al margine laterale del piede. Il dolore spontaneo e provocato è sempre presente.

Quando è interessato il fascio peroneoastragalico anteriore, il piede, flesso plantarmente, può essere lussato anteriormente (segno del cassetto anteriore positivo). Ciò è ancora più evidente quando è rotto anche il fascio peroneocalcaneare. A poche ore dal trauma può risultare impossibile eseguire il test a causa della contrattura muscolare antalgica e della tumefazione che mascherano l'instabilità astragalica.

Gli esami radiografici standard sono negativi, eccettuati i casi in cui si riscontra la presenza dell'avulsione ossea dell'inserzione legamentosa. La gravità della lesione può essere meglio studiata con le radiografie dinamiche e l'artrografia. Le radiografie dinamiche vanno eseguite in due proiezioni e sempre con la possibilità di effettuare nelle medesime condizioni di stress un esame comparativo con il lato sano:

una proiezione anteroposteriore con piede in varo-equino forzato per la ricerca del *tilt* laterale tibioastragalico;

una proiezione laterale con anteropulsione forzata del piede per svelare un cassetto anteriore tibioastragalico (fig. 16).

Fig. 16. Test del cassetto anteriore. La radiografia viene eseguita in proiezione laterale dapprima in condizioni basali (*a sinistra*) e poi applicando una sollecitazione di 4-5 kg in direzione postero-anteriore al piede rispetto alla gamba (*a destra*): se la distanza tra astragalo e tibia sulla retta passante per l'asse dell'astragalo (atteggiato in equinismo) supera i 6 mm, il test è positivo e indica una lesione del compartimento laterale.





Digitized by Google

Il grado del *tilt* astragalico va calcolato facendo riferimento all'angolo, misurato in gradi, che, sul piano frontale, formano le tangenti delle superfici articolari della tibia e dell'astragalo. Tale valore è patologicamente aumentato nelle lesioni del l. peroneoastragalico anteriore ed ancora di più quando la lesione interessa anche il l. peroneocalcaneare.

Il cassetto anteriore, anch'esso segno evidente di lesione del l. peroneoastragalico anteriore, è valutato nella proiezione radiografica laterale come l'incremento in millimetri della distanza tra tibia ed astragalo lungo la retta passante per l'asse longitudinale dell'astragalo.

L'artrografia prevede l'infiltrazione endoarticolare del mezzo di contrasto, risultando perciò una metodica invasiva. Quando indicata deve essere eseguita entro la prima settimana dal trauma onde evitare la possibilità che aderenze cicatriziali mascherino la presenza di lesioni capsulolegamentose. La lesione del l. peroneoastragalico anteriore è visualizzata come un'immagine radiopaca, dovuta allo stravaso del mezzo di contrasto anteriormente al malleolo peroneale. Se anche il l. peroneocalcaneare è danneggiato, l'immagine è più ampia, per uno stravaso più abbondante, e frequentemente si estende alla guaina dei muscoli peronieri.

Il *trattamento* di una lesione capsulolegamentosa della caviglia può variare dal semplice riposo funzionale per alcuni giorni all'immobilizzazione in apparecchio gessato o mediante tutore funzionale, fino alla ricostruzione chirurgica. Non esiste un trattamento universale delle distorsioni della caviglia, il quale invece deve essere improntato alla severità delle lesioni ed alle richieste funzionali del paziente. Un collo del piede stabile da un punto di vista clinico e radiografico non richiede ulteriori accertamenti. Il bendaggio funzionale per 7-10 giorni senza interdizione della deambulazione con il carico è la più giusta scelta terapeutica.

Quando clinicamente la lesione appare più grave e ci sono segni radiografici di lesione completa del l. peroneoastragalico anteriore, con abnorme *tilt* astragalico e cassetto anteriore positivo negli esami dinamici, esiste l'indicazione ad immobilizzare il collo del piede con apparecchio gessato a gambaletto per 3-4 settimane o con un tutore funzionale (fig. 17), permettendo il carico quando il dolore e la tumefazione lo consentono.

Il tutore funzionale è ispirato ad un maggiore rispetto della fisiologia della caviglia infortunata in confronto all'immobilizzazione tradizionale, perché consente di stabilizzare le articolazioni del collo del piede sul piano frontale senza pregiudicare la libertà della flessoestensione; inoltre offre degli indiscutibili vantaggi terapeutici permettendo al medico di controllare direttamente l'evoluzione clinica dell'edema e dell'ecchimosi locali, così come la regressione della dolorabilità alla palpazione, e di ricorrere, ove indicata, alla terapia fisica distrettuale fin dal principio del trattamento; infine, il tutore consente soprattutto al paziente un più rapido ritorno alle attività quotidiane riducendo sensibilmente i tempi di guarigione.

Fig. 17. I tutori funzionali impiegati nella distorsione del collo del piede.

Le lesioni più gravi con interessamento massivo dei l. peroneoastragalico anteriore e peroneocalcaneare e della capsula impongono una sutura chirurgica delle strutture interessate. Lasciate guarire spontaneamente queste lesioni riparano con la formazione di abbondante tessuto cicatriziale che colma la perdita di sostanza, non garantendo però una sufficiente tenuta dei l., che risultano allungati e conseguentemente lassi.

*Lesioni del legamento deltoideo*

Le lesioni isolate del l. deltoideo non sono frequenti. Generalmente, infatti, sono associate a diastasi della sindesmosi tibioperoneale e/o frattura del malleolo peroneale.

Il l. deltoideo è posto sotto tensione quando il piede è forzato in abduzione e rotazione esterna. Conseguentemente questi due meccanismi sono quelli che più frequentemente si riscontrano nelle lesioni legamentose mediali. Delle due componenti traumatiche è senz'altro la rotazione esterna quella maggiormente responsabile nell'azione lesiva visto che il l. è più resistente alla trazione (sollecitazione in cui le forze in gioco sono parallele alle sue fibre) piuttosto che alla torsione, che invece si esplica con forze di taglio perpendicolari alla direzione delle fibre.

Nelle lesioni del l. deltoideo l'aspetto del collo del piede è condizionato, come sempre nelle lesioni capsulolegamentose, dalla marcata dolorabilità lungo il decorso del l. oltre che dalla presenza di tumefazione ed ecchimosi nella regione perimalleolare mediale. Le lesioni complete sono accompagnate quasi sempre da fratture malleolari esterne e da diastasi della sindesmosi tibioperoneale. Delle proiezioni radiografiche possibili la più utile è quella anteroposteriore dove si può apprezzare la presenza eventuale di una sublussazione esterna dell'astragalo con allontanamento delle superfici articolari a livello del malleolo tibiale.

Numerose ricerche stabiliscono in 4 mm la distanza massima possibile tra la superficie articolare interna del malleolo tibiale e la superficie articolare mediale della troclea astragalica in assenza di lesioni del l. deltoideo. L'allontanamento tra le due superfici articolari oltre questo limite è altamente indicativo di lesione completa del l.

Nelle lesioni di grado lieve e medio è indicato il trattamento conservativo, il quale non ha mai comportato il rischio di una recidiva della sublussazione laterale dell'astragalo né di un'instabilità soggettiva. Nelle lesioni gravi associate a fratture del malleolo esterno e diastasi della sindesmosi tibioperoneale deve essere preferito il trattamento chirurgico. In alcuni casi la sublussazione laterale del piede non può essere ridotta a causa dell'interposizione del l. deltoideo rotto tra malleolo tibiale ed astragalo. In questa evenienza, solo la liberazione chirurgica consente il ripristino dei normali rapporti articolari del collo del piede. Deve essere sottolineato che la ricostruzione chirurgica deve sempre essere eseguita per strati rispettando i due piani, superficiale e profondo, del l. deltoideo.

*Lesioni delle sindesmosi*

La diastasi della sindesmosi tibioperoneale (come, con un termine improprio, si definiscono le lesioni dei l. tibiope-





Digitized by Google

roneale anteriore e posteriore e del l. interosseo), può essere completa o parziale.

La lesione è definita completa quando interrompe la continuità di tutto il sistema legamentoso. Di solito nel meccanismo lesivo si riconosce, in questi casi, un violento trauma in abduzione. Invece, nei traumi in rotazione esterna del piede la lesione è incompleta, interessando il l. tibioperoneale anteriore da solo o insieme al l. interosseo; il l. tibioperoneale posteriore agisce come il cardine sul quale il perone ruota verso l'esterno. Quando è solo il l. tibioperoneale anteriore ad essere interessato dalla lesione, la tensione del l. interosseo ancora integro richiama il malleolo peroneale nella sua posizione originaria appena la forza traumatica si esaurisce, cosicché la diastasi è più potenziale che reale.

Viceversa, quando entrambi i l., tibioperoneale anteriore ed interosseo, sono lesi, la riduzione spontanea non può avvenire.

La sede del dolore in corrispondenza del l. interessato è molto prossima a quella delle assai più comuni lesioni del l. peroneoastragalico anteriore, con le quali spesso la rottura del l. tibioperoneale anteriore viene confusa.

Clinicamente la diagnosi radiografica di diastasi della sindesmosi tibioperoneale si basa sull'inversione dell'indice di Merle-D'Aubignè che tiene conto del rapporto tra la distanza del tubercolo anteriore della tibia con il margine mediale del perone e la distanza tra il perone ed il tubercolo posteriore della tibia (normalmente tale indice è minore di 1/2).

Il trattamento dipende soprattutto dalle lesioni eventualmente associate. Comunque, una diastasi modesta può essere trattata in maniera conservativa.

Quando, per il trattamento delle lesioni associate, è pianificato l'intervento chirurgico, la diastasi della sindesmosi tibioperoneale viene ridotta e fissata con una vite trapassante qualche centimetro sopra i malleoli, che viene rimossa dopo 6 settimane.

*Lesioni legamentose croniche*

Accanto alle lesioni legamentose acute del collo del piede esiste un vasto capitolo di patologia legamentosa cronica.

Nelle lesioni croniche l'esame obiettivo è probabilmente più importante ancora che nel trauma acuto, nel quale il dolore e la tumefazione mascherano la gravità e la sede della lesione stessa. Infatti, l'assenza del dolore e conseguentemente della contrattura muscolare antalgica consente di eseguire manovre e prove funzionali e di ripeterle più volte fino alla migliore interpretazione diagnostica.

Anche l'esame radiografico assume grande importanza; tuttavia è possibile una notevole divergenza tra il quadro radiologico e la clinica, perché lesioni cronicodegenerative radiograficamente molto evidenti possono essere del tutto asintomatiche. Nelle proiezioni standard si apprezzano spesso microcalcificazioni pararticolari a livello del polo inferiore di uno o di entrambi i malleoli, testimonianza di pregressi traumi distorsivi.

Più in dettaglio, la proiezione anteroposteriore permette di studiare l'indice di Merle D'Aubignè per la lassità intertibioperoneale; la proiezione laterale evidenzia alterazioni degenerative della superficie articolare della tibia e dell'astragalo con frequenti piccole calcificazioni nella parte superiore del collo astragalico (naso dell'astragalo). Le proiezioni radiografiche dinamiche sono volte alla ricerca della presenza sul piano frontale di un *tilt* astragalico e, in laterale, del cassetto astragalico anteriore.

Anche in questo caso l'esame artrografico è utile complemento dell'esame radiografico, statico e dinamico, quando sussistono dubbi di lesioni più gravi.



L'artroscopia è oggi uno strumento in più nella diagnostica delle lesioni del collo del piede, permettendo al chirurgo ortopedico di sincerarsi dall'interno dell'articolazione della presenza di una patologia di tipo sinovitico o condromalacico nelle situazioni di dolore cronico senza causa apparente o di instabilità soggettiva senza lesione legamentosa. Va anche considerato che l'artroscopia offre la possibilità di trattamento di tali lesioni con i noti vantaggi della terapia endoscopica rispetto alla chirurgia tradizionale.

La lesione capsulolegamentosa cronica della caviglia prevede, al pari di situazioni analoghe in altri distretti articolari, la possibilità di una plastica ricostruttiva. Esistono tecniche operatorie diverse, ognuna con le sue varianti, che fondamentalmente mirano tutte ad una ricostruzione anatomica dei l. insufficienti. Utilizzando il tendine del muscolo peroniero breve, o altra struttura tendinea equivalente, si può ricostruire il decorso dei l. peroneoastragalico anteriore e peroneocalcaneare attraverso passaggi transossei nel malleolo peroneale e nel calcagno con montaggio, a seconda dei casi e delle tecniche, triangolare o trapezoidale.

Segue un periodo di immobilizzazione in gambaletto gessato per 4/5 settimane; il carico assistito può essere concesso generalmente dopo due settimane.

Per ultimo va sottolineata l'importanza della rieducazione propriocettiva (fig. 18) nel programma di riabilitazione che deve proseguire il trattamento, conservativo o chirurgico, della patologia legamentosa del collo del piede. La rieducazione propriocettiva del collo del piede si ispira ai principi fisiologici che per primi Freeman e Wike hanno indicato nei loro studi sulle funzioni dei recettori articolari presenti nel tessuto capsulare e legamentoso della caviglia. I presupposti teorici sono di ordine neurofisiologico. L'innervazione propriocettiva consente l'utilizzazione di informazioni di origine superficiale (sensazioni tattili) e profonda (posizione articolare, stiramento dei tendini e del complesso capsulolegamentoso) che vengono coordinate ad un livello superiore (midollare) ottenendo una risposta integrata che evita la contrazione muscolare isolata a favore dell'azione sinergica di gruppi (o della combinazione di gruppi) muscolari.

In fase di rieducazione si punta a riprodurre condizioni artificiose di instabilità articolare, che assomigliano a quelle del cammino o della corsa su terreno diseguale, per ottenere la ricoordinazione dei riflessi muscolari compromessa dal trauma e dall'immobilizzazione.

Fig. 18. Riabilitazione propriocettiva. Tavoletta di Freeman per la ginnastica propriocettiva nella riabilitazione delle lesioni capsulolegamentose del collo del piede dopo immobilizzazione. Mira al controllo della prono-supinazione e al rinforzo dei muscoli peronieri.



Digitized by Google

**Patologia legamentosa della spalla**

La capsula dell'articolazione scapolomerale è fisiologicamente lassa per consentire la più ampia libertà di movimento ed ha un volume circa doppio di quello della testa omerale. Anteriormente, la capsula è rinforzata dai tre l. glenomerali (superiore, medio ed inferiore), la cui presenza rappresenta un eccellente dispositivo di controllo della stabilità della testa omerale opponendosi efficacemente alla lussazione anteriore della spalla (fig. 19). Molti documentati studi su cadavere hanno comunque dimostrato come la variabilità della configurazione dei l. glenomerali sia quasi la regola nell'anatomia della spalla. Da ciò deriva anche la diversa disposizione, in larghezza e profondità, dei recessi sinoviali che si trovano tra essi. Il l. glenomerale superiore decorre dal tubercolo sopraglenoideo lateralmente fino alla sua inserzione sulla piccola tuberosità dell'omero. I l. glenomerali medio ed inferiore presentano una maggior variabilità del loro decorso (dal bordo anteriore della glena si dirigono in basso verso la faccia anteriore del collo chirurgico dell'omero). Il l. glenomerale medio è assente in circa un terzo dei casi.

*Lussazione scapolomerale*

La lussazione dell'articolazione scapolomerale è quasi sempre un evento traumatico; la varietà atraumatica costituisce meno del 10% del totale. Rispetto alla classificazione anatomica, il tipo di lussazione di gran lunga più comune è quella anteriore. In questo ambito, la forma sicuramente più frequente è quella sottocoracoidea, provocata, di solito, da una combinazione di forze in abduzione ed extrarotazione.

Una lussazione traumatica acuta della spalla è evento assai doloroso per cui il paziente cerca di tenere immobile l'arto interessato nel tentativo di liberarsi dal dolore. Il normale profilo rotondeggiante della spalla dovuto alla forma del muscolo deltoide è alterato, con un appiattimento della regione laterale a causa dello spostamento anteriore della testa omerale che di solito «riempie» la spalla.

La palpazione consente il più delle volte di apprezzare una caratteristica depressione nell'area subacromiale dove in condizioni di normalità è alloggiata la testa dell'omero. L'atteggiamento del paziente è caratteristicamente di semiabduzione con avambraccio flesso al gomito e sostenuto dall'altra mano. L'esame radiografico nelle due proiezioni standard lascia apprezzare la perdita dei normali rapporti nell'articolazione scapolomerale con la caratteristica dislocazione della testa in sede sottocoracoidea (fig. 20) nella maggior parte dei casi.

Il trattamento prevede l'immobilizzazione della spalla, dopo la riduzione, che nei soggetti giovani sarà mantenuta per 4 settimane circa. È sufficiente un tempo di immobilizzazione più breve nei pazienti più anziani (oltre i 50 anni).

Soltanto nelle lussazioni ricorrenti, in cui sono documentati almeno due episodi certi, il trattamento di elezione è chirurgico. Le tecniche descritte sono molto numerose (oltre 100); ciò che preme sottolineare è che nessuna di queste può essere considerata il trattamento universale che funziona sempre. In realtà la terapia deve essere «tagliata addosso» al paziente, come un vestito dal sarto, scegliendo l'intervento che offre le maggiori garanzie di buon risultato in quello specifico caso.

*Patologia legamentosa dell'articolazione acromioclavicolare*

La forma ad «S» permette alla clavicola di agire come un albero a manovella, cosicché essa ruota sul suo asse maggiore durante l'elevazione del braccio. La stabilità dell'articolazione dipende più dai suoi l. estrinseci che non da quelli propri dell'articolazione. La capsula, sottile, è rinforzata superiormente ed inferiormente dai l. acromioclavicolari superiore ed inferiore rispettivamente: il l. superiore si confonde con l'inserzione del trapezio e l'origine del del-

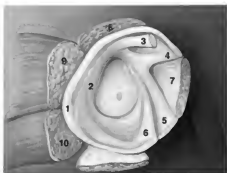



Fig. 19. L. della spalla. Articolazione glenomerale destra vista dal lato esterno. 1) Capsula articolare. 2) Cercine glenoideo. 3) Tendine del capo lungo del bicipite. 4) L. glenomerale superiore. 5) L. glenomerale medio. 6) L. glenomerale inferiore. 7) Tendine del muscolo sottoscapolare. 8) Tendine del muscolo sovraspinoso. 9) Tendine del muscolo sottospinoso. 10) Tendine del muscolo piccolo rotondo.

Fig. 20. Esame radiografico diretto della spalla destra. Lussazione scapolomerale sottocoracoidea.





Digitized by Google

Fig. 21. L. dell'articolazione acromioclavicolare. *A*) L. normali. *B*) Lesione della capsula articolare con diastasi. *C*) Lesione dei l. acromioclavicolari con sublussazione. *D*) Lesione dei l. coracoclavicolari con lussazione.

toide, quello inferiore si continua con il periostio della superficie inferiore della clavicola. I l. coracoclavicolari (fig. 21, *A*) invece, sono il principale supporto dell'articolazione: il conoide medialmente, il trapezoide lateralmente.

La lesione legamentosa, che comporta la sublussazione o la lussazione dell'articolazione, generalmente si verifica per un trauma diretto sulla spalla con braccio addotto che spinge l'acromion medialmente e verso il basso (caduta sul moncone della spalla). Se il trauma è di lieve entità si rompono la capsula ed il l. acromioclavicolare superiore, in genere medialmente all'inserzione del m., così questo rimane inserito sull'acromion. Questa è la *distorsione di primo grado*, che non determina spostamento (fig. 21, *B*). Con un trauma più violento, si rompe anche il l. acromioclavicolare inferiore, a livello della sua inserzione clavicolare, insieme al periostio della superficie inferiore della clavicola. Ciò provoca una sublussazione (con spostamento minore del diametro dell'osso) o *distorsione di secondo grado* (fig. 21, *C*).

Nelle *lesioni di terzo grado* si rompono anche i l. conoide e trapezoide insieme alla fascia clavipettorale. Ciò provoca una perdita completa dei rapporti articolari (fig. 21, *D*).

Sin dai tempi di Ippocrate si discute se trattare chirurgicamente o conservativamente questa patologia. Negli anni '50-'70 l'opinione più diffusa favoriva la riduzione a cielo aperto con la fissazione chirurgica dell'articolazione; attualmente si preferisce trattare queste lesioni conservativamente con bendaggi o tutori tipo Kenny-Howard.

**Bibliografia**


GINOCCHIO

Feagin J. A., *The Crucial Ligaments*, 1988, Churchill Livingstone, New York.
Hughston J. C., Andrews J. R., Cross M. J., Moschi A., *J. Bone Joint Surg.*, 1976, **58-A**, 159-172.
Hughston J. C., Andrews J. R., Cross M. J., Moschi A., *J. Bone Joint Surg.*, 1976, **58-1**, 173-179.
Insall J. N., *Surgery of the Knee*, 1988, Churchill Livingstone, New York.
Mink J., Reicher M., Crues III J., *M R I. of the Knee*, 1988, Raven Press, New York.
Pellacci F., Stilli S., Pignatti G., *Giorn. Ital. Ortop. Traum.*, 1988, **XIV**, 365-370.
Perugia L., Puddu G., Ferretti A., Mariani P. P., *La patologia capsulo-legamentosa cronica. Progressi in Med. dello Sport. Traum. dello Sport Castrocaro Terme*, 1983, Aulo Gaggi Editore, Bologna, 97-125.
Puddu G., *Am. J. Sports Med.*, 1980, **8**, 402-404.
Puddu G., Perugia L., Mariani P. P., Ferretti A., *La patologia meniscale. Progressi in Med. dello Sport. Traum. dello Sport Castrocaro Terme*, 1983, Aulo Gaggi Editore, Bologna, 37-65.
Puddu G., Conteduca F., Cerullo G., Cipolla M., *Classificazione delle lesioni legamentose. Il ginocchio*, 1989, **VIII**.
Trillat A., Dejour H., Bousquet G., *Chirurgia del ginocchio*, 1979, Verduci Editore, Roma.

COLLO-PIEDE

Boni M., Jelmoni G. P., Benazzi M., Monti G., *Giorn. Ital. Ortop. Traum.* (Suppl.), 1979, 229-240.
Brostrom L., *Acta Chir. Scand.*, 1966, **132**, 537-550.
Carne P., *Am. J. Sports Med.*, 1989, **17**, 253-257.
Cedell C., *Acta Orthop. Scand.*, 1975, **46**, 425.
Chrisman O. D., Snook G. A., *J. Bone Joint Surg.*, 1969, **51-A**, 904-912.
Hamilton W. G., *Surgical Anatomy of the Foot and the Ankle. Clinical Symposia Ciba*, 1989, **37**, 3.
Lanzetta A., Meani E., *Giorn. Ital. Ortop. Traum.* (Suppl.), 1979, 229-240.
Lanzetta A., *La patologia traumatica acuta della tibio-tarsica. Progressi in Med. dello Sport. Traum. dello Sport Castrocaro Terme*, 1983, Aulo Gaggi Editore, Bologna, 129-153.
Pizzetti M., Nazzi G., *La patologia traumatica cronica della tibio-tarsica. Progressi in Med. dello Sport. Traum. dello Sport Castrocaro Terme*, 1983, Aulo Gaggi Editore, Bologna, 155-187.
Smith R. W., Reischl S. F., *Am. J. Sports Med.*, 1986, **14**, 465-471.
Staple D. S., *J. Bone Joint Surg.*, 1975, **57-A**, 101-107.

SPALLA

Hastings D. E., Coughlin L. P., *Am. J. Sports Med.*, 1981, **9**, 352-355.
Henry J. H., Genung J. A., *Am. J. Sports Med.*, 1982, **10**, 135-137.
Heppenstall R. B., *Fracture Treatment and Healing*, 1980, Saunders, Philadelphia.
Post M., *Clin. Orthop.*, 1985, **200**, 234-247.
Puddu G., Cerullo G., *Traumatologia della spalla nello sport. Atti della tavola rotonda. Roma 18/6/1988.*
Rothman R. H., Marvel J. P., Heppenstall R. B., *Orthop. Clin. North Am.*, 1975, **6**, 415-422.
Rothman R. H., Marvel J. P., Heppenstall R. B., *Orthop. Clin. North Am.*, 1975, **6**, 341-352.
Zarins B., Andrews J. R., Carson W. G., *Injuries to the Throwing Arm*, 1985, Saunders, Philadelphia.


GIANCARLO PUDDU, GUGLIELMO CERULLO, MASSIMO CIPOLLA, VITTORIO FRANCO E ALBERTO SELVANETTI

## MERCURIO [v. vol. IX, col. 931]

**Inquinamento da mercurio**

Dei due cicli nei quali schematicamente vengono suddivisi i fenomeni di circolazione del mercurio nell'ambiente, quello *locale*, pur essendo alimentato dall'immissione di m. in quantità nettamente minori di quelle coinvolte nel ciclo globale, è responsabile dei più noti fenomeni di intossicazione mercuriale di origine ambientale. Al *ciclo globale* si riferisce la circolazione atmosferica di vapori di m. provenienti da sorgenti naturali (in quantità stimata fra le 25.000 e le 125.000 tonnellate/anno) per degassificazione, in parte attraverso i gas vulcanici, della crosta terrestre che ne contiene 25-50 μg/kg e per evaporazione dagli oceani, nei quali si stima siano presenti 70 milioni di tonnellate di m.

Il ciclo locale è legato alla circolazione di composti organomercuriali derivanti prevalentemente dalla metilazione di m. in parte proveniente ancora da fonti naturali ma in prevalenza di origine antropica (industria estrattiva, combustione di carbon fossile e di oli minerali, produzione di cloralcali per elettrolisi dell'acqua marina, produzione e impiego di fungicidi e germicidi a base di m., uso di amalgame in odontoiatria). Malgrado le limitazioni e le precau-





Digitized by Google

zioni adottate in questi impieghi, in particolare nell'industria dei cloralcali e nella produzione della polpa di legno (in Svezia i derivati mercuriali non sono più utilizzati in questa produzione a partire dal 1966), si stima che l'immissione antropica di m. nell'ambiente segua un incremento annuale del 2% e si collochi nel 1990 intorno alle 15.000 tonnellate/anno.

La metilazione del m. disperso nell'ambiente, che si realizza attraverso processi in parte abiotici ma in prevalenza di natura microbiologica, svolge un ruolo critico nel ciclo locale in quanto, nei confronti dei sali inorganici di m., i derivati organomercuriali non solo sono più tossici, ma anche più assimilabili da parte degli organismi vegetali e animali attraverso i quali il m. può entrare nella catena alimentare. Le diverse tappe delle transizioni fra ciclo globale e locale e da questo alla catena alimentare non sono pienamente note, ma non mancano esempi che documentano, a grandi linee, queste transizioni.

Nei laghi artificiali canadesi si è assistito alla comparsa di metilmercurio derivante da metilazione microbiologica del m. inorganico ceduto dalle rocce al corpo idrico di recente istituito o in esso immesso dalle piogge la cui eventuale acidità accentua la liposolubilità degli organomercuriali, aumentandone l'assimilabilità da parte della flora e della fauna acquatiche. L'accertata presenza di m. nelle alghe e il suo bioaccumulo nei pesci, hanno portato a imporre severe restrizioni alla pesca commerciale e sportiva in diverse regioni del Canada e del nord degli Stati Uniti, ove si è anche constatato accumulo di m. negli organi di uccelli e di mammiferi per i quali il pesce costituisce una importante fonte di alimentazione.

L'impiego di fungicidi e di germicidi a base di m. non ha dato origine a episodi di intossicazione collettiva simili a quelli verificatisi in Iraq (v. MERCURIO, IX, 936), ma continua a essere causa non solo di morie animali (di uccelli granivori intossicati da sementi trattate con questi composti e di uccelli predatori che dei primi si nutrivano) ma anche di intossicazioni umane per ingestione di carne di maiali nutriti con cereali trattati con antifungini mercuriali. Casi di acrodinia (v.), che malgrado la sua riconosciuta dipendenza da esposizione al m. presenta ancora aspetti oscuri (essa si manifesta nei bambini e negli adolescenti, non nei neonati e negli adulti parimenti esposti e la sua patogenesi riconosce probabili componenti di ipersensibilità individuale), si sono verificati in Argentina per l'uso di pannolini trattati con fungicidi a base di fenilmercurio e, più recentemente, negli Stati Uniti in seguito alla respirazione dei vapori emessi da tinte murali contenenti quantità di m. tre volte superiori a quelle ammesse (limite massimo 1,5 mmol/l) applicate di recente in ambienti non ventilati. Nell'aria di ambienti tinteggiati con vernici contenenti antifermentativi mercuriali si sono misurate, anche a distanza di mesi dall'applicazione delle vernici, significative concentrazioni di m. che, pur rimanendo al disotto dei massimi livelli ammessi per esposizione non continuativa in ambiente di lavoro (250 nmol/m$^3$), superavano i più rigorosi limiti recentemente suggeriti negli Stati Uniti per le strutture abitative (2,5 nmol/m$^3$). È allo studio la sostituzione degli antifermentativi mercuriali con prodotti alternativi privi di m.

Dopo l'incidente di Minamata (v. MERCURIO, IX, 935) che continua a esser fonte di nuovi dati (la presenza di m. metallico è stata documentata nel cervello di un soggetto sopravvissuto con gravi menomazioni all'intossicazione e deceduto 26 anni dopo l'incidente), non si sono verificati ulteriori fenomeni di intossicazione collettiva da inquinamento di origine industriale. L'efficacia dei provvedimenti adottati in Svezia nell'industria dei cloralcali emerge da studi longitudinali che documentano negli addetti a questa attività un marcata riduzione degli indici biologici di esposizione (il m. urinario è sceso dai valori medi di 1 µmol/l del 1950 a meno di 250 nmol/l attuali; i primi sintomi di intossicazione nei soggetti cronicamente esposti si osservano con concentrazioni urinarie intorno a 750 nmol/l).

La dispersione di m. metallico in laboratori scientifici ma anche in ambienti domestici costituisce una non rara origine di intossicazione e impone delicati processi di decontaminazione. Ampiamente discussi sono i rischi da cessione di m. dalle amalgame utilizzate in odontoiatria. Per quanto documentata nell'animale da esperimento e nell'uomo tale cessione e i depositi di m. che ne derivano in vari organi (S.N.C., polmoni, reni, fegato) rimangono in limiti contenuti e non sembrano giustificare ragionevoli ipotesi di rischio; questo si ritiene valere anche per gli operatori in campo odontoiatrico a condizione che vengano rispettate le corrette precauzioni nell'allestimento e nell'impiego delle amalgame.

La terapia dell'intossicazione mercuriale segue le linee da tempo tracciate (v. MERCURIO, IX, 934). Ai classici chelanti (BAL, D-penicillamina [v. CHELANTI*]) si sono attualmente affiancati nuovi derivati quali l'ac. 2,3 dimercaptosuccinico (DMSA), il 2,3 dimercaptopropano-1-sulfonato (DMPS) e la N-acetil-D-penicillamina (NAP). Nei casi ove esista compromissione renale è preferibile l'uso dei derivati dimercaprolici i cui chelati vengono eliminati per via biliofecale oltre che urinaria, contrariamente ai chelati di penicillamina che vengono esclusivamente escreti per via renale.

**Bibliografia**

Clarkson T. W., *N. Engl. J. Med.*, 1990, **323**, 1137-1139.
Curtis H. A., Ferguson S. D., Kell R. L., Samuel A. H., *Arch. Dis. Child.*, 1987, **62**, 293-295.
Danscher G., Hørsted-Bindslev P., Rungby J., *Exp. Mol. Pathol.*, 1990, **52**, 291-299.
Goodman Gilman A., Rall T. W., Nies A. S., Taylor P., eds., *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 1990, 8 ed., Pergamon Press, New York, 1598-1602.
Major M. A., Rosenblatt D. H., *Environ. Toxicol. Chem.*, 1991, **10**, 5-8.
Mortensen M. E., Powell S., Sferza T. S. *et al.*, *MMWR*, 1990, **39**, 424-425.
Sällsten G., Barregard L., Järvholm B., *Ann. Occup. Hyg.*, 1990, **34**, 205-214.
Stachniss V., Legrum W., *Dtsch. med. Wochenschr.*, 1990, **115**, 1490-1494.
Takeuchi T., Eto K., Tokunaga H., *Neurotoxicology*, 1989, **10**, 651-657.
WHO, *Environmental Health Criteria 86*, 1989, WHO, Geneva, 1-115.

AMILCARE CARPI DE RESMINI

## MESALAZINA

F. *mesalazine*. - I. *mesalazine*. - T. *Mesalazin*. - S. *mesalazina*.

La mesalazina (ac. 5-aminosalicilico; 5-ASA) è un epimero dell'ac. 4-aminosalicilico (paraminosalicilico), farmaco da lungo tempo impiegato nella polichemioterapia antitubercolare.

HOOC
HO— —$NH_2$

mesalazina

Il 5-ASA è noto da più di 40 anni come costituente, insieme al sulfamidico sulfapiridina, della salazopirina, farmaco cardine nella terapia di mantenimento della rettocolite ulcerosa. Sebbene la salazopirina possieda effetti farmacologici propri, è stato ripetutamente dimostrato che





Digitized by Google

gran parte dei suoi effetti terapeutici è attribuibile al 5-ASA, che si libera a livello intestinale. Il meccanismo d'azione del 5-ASA non è completamente noto, ma la maggior parte delle ricerche svolte ha rilevato un suo intervento sulla cascata dell'ac. arachidonico. In particolare, il 5-ASA inibirebbe la biosintesi di prostaglandine a livello della mucosa intestinale colpita da infiammazione ulcerativa; un altro possibile meccanismo d'azione del 5-ASA sui mediatori dell'infiammazione consisterebbe nell'inibire, a livello dei neutrofili umani, la trasformazione da leucotriene A4 (LTA4) a leucotriene B4 (LTB4), sostanza questa che esercita spiccati effetti proinfiammatori.

La dimostrazione che la parte attiva della salazopirina è il 5-ASA, unitamente alle non rare segnalazioni di intolleranza alla salazopirina, hanno stimolato la sintesi e l'impiego clinico di preparazioni contenenti esclusivamente 5-ASA, con indicazioni cliniche essenzialmente sovrapponibili a quelle della salazopirina.

Il 5-ASA è disponibile in preparazioni per via orale e per via rettale. I due principali preparati per via orale prevedono, il primo, un rivestimento a base di resina acrilica che ritarda la liberazione del farmaco fino a che il pH non abbia superato il valore di 7 (rilascio ritardato); il secondo, una membrana semipermeabile di etilcellulosa, che determina, invece, un rilascio a partire da subito dopo l'ingestione e lungo tutto l'intestino (rilascio prolungato).

La prima preparazione (Asacol®), ora in commercio anche in Italia, ha dimostrato in numerosi studi, al dosaggio di 1600-2400 mg/*die* (4-6 compresse), risultati simili a quelli della salazopirina nel mantenere la remissione della rettocolite ulcerosa.

Un recente contributo statunitense, confermato da uno studio policentrico italiano, ha dimostrato un'azione terapeutica apprezzabile dell'Asacol® anche nelle forme acute lievi o moderate a interessamento distale della colite ulcerosa; purtuttavia risultati eclatanti sono stati raggiunti solo con dosaggi di farmaco molto alti (4,8 g/*die*).

La seconda preparazione citata (Pentasa®; Ferring®), anch'essa già in commercio in Italia, proprio per le sue proprietà di rilascio progressivo del farmaco, sembra possedere caratteristiche favorevoli ad un impiego nell'ileocolite di Crohn, in cui i primi studi hanno dimostrato risultati incoraggianti. Del tutto preliminari, anche se incoraggianti, sono invece i risultati sull'efficacia di questo prodotto nel mantenimento della remissione della rettocolite ulcerosa.

Pertanto, al momento attuale, la principale indicazione terapeutica sicura del 5-ASA per via orale riguarda l'impiego della preparazione a liberazione ritardata nel mantenimento della remissione della rettocolite ulcerosa. Il 5-ASA diventa farmaco di prima scelta in questa condizione nel gruppo tutt'altro che piccolo (10-20%) di pazienti intolleranti o allergici alla salazopirina (prevalentemente alla sua componente sulfamidica). Purtuttavia, anche il 5-ASA provoca in alcuni pazienti effetti collaterali, i più frequenti dei quali sono: dolori addominali, diarrea, vere e proprie esacerbazioni della colite, eruzioni cutanee, cefalea, leucopenia, rialzo degli indici di citolisi epatica.

Attualmente non sembrano esistere indicazioni assolute all'impiego del 5-ASA nella terapia di mantenimento della rettocolite ulcerosa in pazienti che tollerano senza problemi la salazopirina.

Il 5-ASA è utilizzato con successo anche per via rettale nelle forme di gravità lieve o moderata di rettocolite ulcerosa a interessamento distale; in tali forme ha dimostrato, in numerose ricerche, efficacia comparabile a quella degli steroidi somministrati per la stessa via, e una quasi totale assenza di effetti collaterali. Il dosaggio ottimale sembra essere di 4 g/*die*, ma anche con dosaggi inferiori si possono ottenere miglioramenti clinici ed endoscopici significativi.

V. anche: COLITE ULCEROSA* (col. 1781).

**Bibliografia**

Bianchi Porro G., Fasoli R., *Medicina-Riv. EMI*, 1988, **8**, 249-261.
Bondesen S. *et al.*, *Acta Med. Scand.*, 1987, **221**, 227.
Modigliani R., Rambaud J. C., *Gastroenterol. Clin. Biol.*, 1987, **11**, 325.
Schroeder K. W., Tremaine W. J., Ilstrup D. M., *N. Engl. J. Med.*, 1987, **317**, 1625.
Sutherland L. R. *et al.*, *Gastroenterology*, 1987, **92**, 1894.

GABRIELE BIANCHI PORRO E RENATO FASOLI

## MESNA

Il mesna, o 2-mercaptoetansulfonato, è un composto sulfidrilico di sintesi, inizialmente introdotto in terapia sotto il nome di Mistabron®, come fluidificante del catarro bronchiale ed espettorante. Al pari di altri sulfidrilanti (ad es. l'acetilcisteina), esso è infatti dotato di una buona attività mucolitica.

Più recente è invece l'impiego del m. in associazione con alcuni antiblastici ad azione alchilante, quali la ciclofosfamide, la ifosfamide (v.*) e la mafosfamide. Nel caso della ifosfamide, tale associazione è disponibile come specialità farmaceutica (Urometixan®). La sua razionalità farmacologica non consiste in un potenziamento dell'attività antitumorale, ma in una riduzione degli effetti collaterali dell'antiblastico. Più precisamente, il m. è in grado di prevenire la cistite emorragica prodotta con elevata frequenza dalla ciclofosfamide e dai suoi analoghi. Nel caso della ifosfamide, la formazione di acroleina è responsabile della cistite emorragica, condizione che non è prodotta né dal farmaco di per sé né dal suo metabolita ad attività antiblastica mostarda isofosforamide. Il m. non riduce la formazione di acroleina, ma la inattiva, impedendone quindi la azione tossica a livello vescicale. È probabile che il meccanismo di protezione svolto dal m. verso la ciclofosfamide e la mafosfamide sia sostanzialmente simile.

La posologia consigliata consiste nella somministrazione endovenosa a bolo di una dose di m. equivalente al 20% della dose di ifosfamide, 15 min prima e poi quattro e otto ore dopo ogni iniezione di ifosfamide. La dose giornaliera ottimale di m. dovrebbe consistere quindi nel 60% di quella di ifosfamide.

Gli effetti collaterali osservati con maggiore frequenza dopo somministrazione endovenosa di m. consistono in nausea, vomito, diarrea, cefalea, affaticamento, dolore alle estremità, ipotensione e allergia. L'uso come espettorante del m. in aerosol ha dato origine a rari casi di broncospasmo e di *rash* cutanei.

**Bibliografia**

Dukes M. N. G., Beeley L., *Side Effects of Drugs*, 1989, Annual 13, 408, 414.
*Martindale-The Extra Pharmacopoeia*, 1989, 29 ed., Pharmaceutical Press, London, p. 842.
*The Medical Letter*, 1990, XIX, 1.

RED.

## MESOTERAPIA

F. *mesothérapie*. - I. *mesotherapy*. - T. *Mesotherapie*. - S. *mesoterapia*.

Viene denominata *mesoterapia* una metodica terapeutica o, meglio, una tecnica di somministrazione locale dei farmaci basata su microiniezioni multiple effettuate nello spessore del derma o nello strato superficiale del tessuto sottocutaneo. Per eseguire tali iniezioni si ricorre a particolari aghi, detti di Lebel (del calibro di 0,4 mm e della lunghezza di



Digitized by Google

4 mm), che possono essere usati singolarmente ovvero innestati in serie su supporti di plastica o di metallo (multiniettori). Questi possono essere eventualmente muniti di un dispositivo elettronico che permette di regolare la frequenza delle iniezioni e la quantità di farmaco erogata da ciascuna di esse.

**Bibliografia**

Bartoletti C. A., Maggiori S., Tomaselli F. eds., *Mesoterapia 1982*, 1983, Ed. Salus Internazionale, Roma.
Ravily G., *Atlas Clinique de Mesothérapie*, 1988, PMI, Parigi.
Pistor M., *Manuale pratico di mesoterapia*, 1982, Ed. Salus Internazionale, Roma.

RED.

## META-ANALISI

F. *méta-analyse* - I. *meta-analysis.* - T. *Meta-Analyse.* - S. *meta-análisis.*

SOMMARIO



### Introduzione

Il termine *meta-analisi* [m.-a.] è stato introdotto da G. V. Glass nel 1976 e si riferisce a quell'insieme di tecniche necessarie a combinare in modo sistematico i risultati di studi diversi su argomenti analoghi. Nel momento in cui si deve prendere una decisione circa la esecuzione di un test diagnostico o la applicazione di una procedura terapeutica, il clinico «combina» o si rifà più o meno informalmente ai diversi pezzi di conoscenza disponibile ai quali ha avuto accesso. La m.-a., da questo punto di vista, non è niente altro che un metodo per dare rigore e sistematicità a questo processo di combinazione e integrazione delle informazioni.

Sono attualmente in uso termini diversi per indicare la combinazione sistematica delle evidenze da studi diversi. Oltre a quello di m.-a., altri termini comunemente usati sono quelli di *overview* o *pooling*. Il termine *overview* può essere fonte di confusione in quanto non comporta una chiara distinzione rispetto alla espressione di opinioni in un modo non quantitativo, come si fa nelle tradizionali *review*. Sarebbe quindi preferibile il termine di «*overview* quantitativa» che non è però certamente attraente dal punto di vista della semplicità espressiva. Il termine *pooling*, invece, suggerisce la semplice combinazione quantitativa senza alcuna considerazione per la qualità (validità) scientifica di uno studio, o per quei fattori (legati soprattutto al disegno) che possono condizionare la generalizzabilità dei risultati.

Il termine m.-a. sembra pertanto preferibile in quanto contiene l'idea di «analisi complessiva», sia quantitativa che qualitativa, della consistenza interna di informazioni tra loro eterogenee, ma orientate a rispondere ad un medesimo quesito.

### Quando è utile una meta-analisi

La grande maggioranza degli studi clinici controllati nella letteratura medica sono numericamente sottodimensionati (includono cioè troppo pochi pazienti) per essere in grado di dimostrare con un accettabile grado di certezza (potenza statistica) quegli effetti che è plausibile attendersi con la maggior parte delle terapie disponibili. L'uso più comune della m.-a. consiste pertanto nella combinazione dei risultati di tanti piccoli studi tra loro conflittuali (alcuni a favore, altri contro e altri ancora né a favore né contro un determinato intervento). Purtroppo chi legge la letteratura medica spesso dimentica la semplice regola secondo cui l'effetto di un intervento è dato dalla sommatoria di

effetto vero + variabilità casuale + errore sistematico.

Da questo punto di vista, quando la variabilità casuale (se i numeri di soggetti studiati sono troppo piccoli) e l'errore sistematico (se sono stati violati i principi di correttezza nel disegno e nella analisi dei risultati dello studio) sono troppo grandi, la constatazione di un risultato nullo (cioè uno studio che si conclude senza aver trovato una differenza statisticamente significativa) non dovrebbe avere alcun senso e credibilità. È proprio nelle situazioni in cui i risultati dei diversi studi sono tra loro conflittuali (ovverosia la maggioranza dei casi della moderna medicina) che è utile una analisi combinata, sistematica e in grado di «pesare» in modo differenziato le evidenze che provengono dai singoli studi. Senza contare poi che una m.-a. degli studi esistenti — apprezzandone pregi e difetti — può essere la migliore guida per disegnare uno studio realmente conclusivo su un determinato argomento.

### I problemi metodologici nella esecuzione di una meta-analisi

A differenza della *review* tradizionale — per definizione soggettiva e legata a criteri implicitamente stabiliti dall'A. — la m.-a. si basa su criteri di valutazione espliciti e necessita quindi di un protocollo di esecuzione che specifichi i diversi aspetti procedurali da osservare nella sua esecuzione; tra questi: *a*) razionale; *b*) definizione *end-point* principali e secondari; *c*) criteri di inclusione/esclusione degli studi; *d*) metodi statistici impiegati e loro assunzioni; *e*) criteri per la valutazione della consistenza dei risultati; *f*) modalità di presentazione dei risultati stessi.

*Come si utilizzano i dati quando si fa una meta-analisi*

È abbastanza frequente sentir dire che i risultati di una m.-a. non sono validi in quanto si sono mescolate «pere con mele», si sono cioè mischiati i risultati di studi condotti su popolazioni diverse di pazienti, sottoposte a trattamenti in realtà diversi anche se apparentemente omologabili, e sperimentati in condizioni di *setting* tra loro non confrontabili. Questa idea è profondamente sbagliata.

Uno dei capisaldi della metodologia della m.-a. consiste nel fatto che ogni singolo studio con la sua specifica popolazione di pazienti e con il particolare tipo di trattamento studiato viene prima considerato *separatamente* e sono solo i risultati ottenuti all'interno di ogni studio che vengono sommati. Si ricorre cioè a una «analisi stratificata» nella quale l'effetto del trattamento viene dapprima stimato all'interno di ciascuno studio e poi i singoli effetti (come differenza assoluta o relativa) vengono combinati per stimare l'effetto complessivo. Tale procedimento è basato sulla assunzione secondo cui i singoli studi possono essere differenti l'uno dall'altro e dunque gli effetti del trattamento (ovverosia la differenza nei risultati tra gruppo sperimentale e di controllo) sono diversi *quantitativamente* tra gli studi utilizzati nella combinazione.

### I problemi statistici legati alla esecuzione di una meta-analisi

*I metodi statistici*

Il metodo migliore per combinare le evidenze da studi diversi consiste nella combinazione dei risultati dei singoli



Digitized by Google

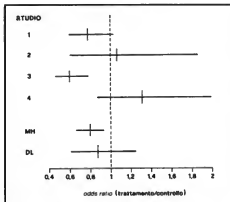



Fig. 1. Esempio ipotetico di stime dell'*odds ratio* e dei relativi intervalli di confidenza al 95% basati sul metodo di Mantel-Haenszel (MH) e sul metodo di DerSimonian-Laird (DL).

studi attraverso una analisi stratificata. I diversi metodi differiscono principalmente nel modo con cui vengono attribuiti i «pesi» ai risultati dei singoli studi. Si fa generalmente riferimento a due tipi generali di metodi di analisi che si basano su assunzioni di partenza differenti.

Il primo, chiamato *modello a effetti fissi* — che è quello preferito da chi scrive — assume che l'ipotesi «nulla» di assenza di effetto del trattamento sia approssimativamente vera per tutti gli studi. Tale modello, originariamente proposto da Woolf è basato sul calcolo di una statistica riassuntiva e della sua varianza come media pesata delle statistiche riassuntive dei singoli studi. Questa statistica complessiva può essere espressa sia come effetto assoluto che relativo. Alcuni anni dopo Woolf, Mantel e Haenszel hanno proposto un metodo — oggi divenuto lo standard nelle analisi di studi epidemiologici e indicato correntemente come metodo di m. a. — che permette di combinare le informazioni da tabelline 2 × 2 combinando gli *odds ratio* dei singoli studi (fig. 1). I risultati che si ottengono applicando il metodo di Mantel e Haenszel sono — come illustrato da Peto — praticamente simili ai risultati ottenuti applicando il metodo Woolf. Il metodo di Mantel e Haenszel ha inoltre il vantaggio di essere molto semplice da utilizzare, di non richiedere assunzioni che taluni ritengono arbitrarie, e di essere infine estremamente efficiente dal punto di vista statistico.

Il secondo modello — chiamato *metodo dell'effetto random* — originariamente proposto da Cochran, riconosce esplicitamente la esistenza di una eterogeneità tra studi diversi e permette di incorporarne il peso all'interno del calcolo della stima complessiva. L'idea di Cochran è stata ripresa da DerSimonian e Laird.

Per discutere e comprendere le implicazioni delle differenze sin qui discusse tra le due famiglie di metodi può essere utile riferirsi all'ipotetico esempio tratto da un recente articolo di Gelber e Goldhrish (fig. 1). Come si vede nella figura tratta dal loro articolo, ci si può trovare in situazioni in cui l'applicazione di uno dei due metodi fornisce indicazioni differenti. Se gli studi — come nell'esempio riportato — hanno prodotto risultati tra loro molto eterogenei l'uso dei due metodi produrrà evidenze differenti.

L'utilizzo del metodo di Mantel e Haenszel è consigliabile — secondo Gelber e Goldhrish — quando si presume che ciascuno studio stia misurando lo stesso «effetto comune». Il metodo di Mantel e Haenszel non prevede nessun aggiustamento per le eterogeneità e produce pertanto degli intervalli di confidenza di ampiezza più ridotta ed assegna un peso maggiore ai risultati provenienti dallo studio con maggior numero di pazienti. L'eterogeneità che è evidente osservando la dispersione dei risultati può creare delle perplessità sul fatto di stimare un *odds ratio* comune tra i quattro studi. Il metodo dell'effetto random prevede esplicitamente che vi possa essere un *range* di possibili risultati che stimano tutti un ipotetico effetto medio. Nel caso specifico della fig. 1, è illustrato come tener conto della eterogeneità nella stima combinata dell'effetto che è più vicina alla media dei singoli *odds ratio* e ha inoltre intervalli di confidenza più ampi. Il metodo di DerSimonian e Laird è più complicato dal punto di vista del calcolo, e produce un test statistico che è meno efficiente se la assunzione di eterogeneità dei risultati non è necessaria (Berlin *et al.*). Se entrambi i metodi producono risultati similari si può avere una certezza maggiore nella correttezza dei risultati.

*Le scale di misurazione dell'effetto*

Il problema della scala di misurazione che si utilizza per esprimere il risultato di una m.-a. ha a che fare con la scelta del metodo statistico (e conseguentemente del modello) che si decide di adottare. Mentre per l'analisi dei risultati del singolo *trial* sono necessari i dati relativi ai risultati ottenuti nei singoli pazienti, per la m.-a. si utilizzano generalmente i risultati in aggregato ottenuti nel gruppo sperimentale e di controllo del singolo *trial*. Solamente nel caso si vogliano costruire curve di sopravvivenze sono necessari, anche in ambito di m.-a., i dati sui singoli pazienti. Come già discusso in precedenza, in una m.-a. propriamente condotta i dati relativi ai singoli pazienti provenienti dai diversi studi non vengono mai sommati l'uno all'altro ma piuttosto combinati con l'idea di confrontare «il simile con il simile» per ottenere stime dell'effetto all'interno di sottogruppi — rappresentati il più delle volte dai singoli studi — il più possibile omogenei.

Le misure di stima dell'effetto che vengono utilizzate sono rappresentate sia da misure di effetto relativo (*odds ratio* o *relative risk*) sia da misure di effetto assoluto (*risk difference*). Le misure di effetto assoluto sono utili in quanto danno una informazione più chiara e comprensibile per il clinico circa la grandezza dell'impatto dell'intervento. Le misure di effetto relativo sono invece utili per verificare se gli effetti del trattamento sono «reali». Può essere utile considerare il caso dell'uso dei due tipi di misure per descrivere l'effetto di un trattamento per gruppi di pazienti con differente rischio (prognosi).

Una riduzione del rischio di morte a cinque anni del 25% può corrispondere sia al passaggio dal 60 al 70% nella sopravvivenza di un gruppo di pazienti ad alto rischio sia a quello dal 92 al 94% per un gruppo a più basso rischio. Questa identica riduzione di rischio relativo è basata però su una differenza assoluta del 10 e 2%, rispettivamente. Se uno pensa a trattamenti gravati da notevole tossicità — come nel caso delle chemioterapie antitumorali — è evidente che un tale quadro di risultati suggerisce il criterio di trattare i pazienti ad alto e non quelli a basso rischio.

*Analisi degli eventi la cui insorgenza può variare nel tempo*

Gli esiti oggetto di interesse negli studi clinici controllati insorgono spesso secondo un *pattern* correlato al tempo di





Digitized by Google

inizio della malattia o del trattamento. Tale tipo di esiti è evidentemente più difficile da analizzare rispetto a quelli per i quali invece il tempo di *follow-up* non rappresenta una variabile importante come, per es., la insorgenza di effetti collaterali o la risposta obiettiva di un tumore in fase avanzata al trattamento. In questo secondo caso, evidentemente, l'effetto del trattamento può essere valutato semplicemente confrontando la proporzione di soggetti che hanno manifestato l'evento di interesse nel gruppo trattato con la stessa proporzione del gruppo di controllo.

Nel caso, invece, degli esiti tempo-correlati, l'effetto del trattamento deve essere valutato considerando l'intera curva di sopravvivenza, sia dei trattati che dei controlli. Anche se idealmente una m.-a. che ha a che fare con eventi tempo-correlati dovrebbe essere eseguita sulla base dei tempi di sopravvivenza dei singoli pazienti sia del gruppo trattato che di quello di controllo, è pratica comune prendere da ogni studio che contribuisce alla m.-a. una statistica riassuntiva dell'effetto del trattamento in termini di proporzione di soggetti e combinarla con le analoghe proporzioni derivate dagli altri studi. Una alternativa alla combinazione di tutti gli studi a prescindere dalla lunghezza del tempo di *follow-up* è quella di stabilire degli intervalli di tempo fissi (ad es. 3, 5, 7 anni) e produrre stime combinate degli effetti (per es. in termini di sopravvivenza) ai diversi intervalli utilizzando volta per volta solo quegli studi che abbiano una maturità di *follow-up* sufficiente.

**La validità scientifica di una meta-analisi**

Come già detto, la m.-a. è essenzialmente un esercizio retrospettivo e come tale esposto a tutti i rischi di valutazioni *post-hoc*. Come ogni buon esperimento scientifico la m.-a. deve nascere da una ipotesi e possedere un razionale preciso. Proprio a causa dei rischi legati al fatto che facendo crescere molto i numeri di soggetti esaminati si può facilmente raggiungere la significatività statistica anche in assenza di una plausibile ipotesi biologica, chi esegue una m.-a. deve essere estremamente cauto. Una possibile griglia per valutare la validità scientifica di una m.-a. dovrebbe comunque comprendere: *a*) modalità di selezione degli studi considerati; *b*) definizioni adeguate del tipo di pazienti e trattamenti considerati oltre al razionale clinico della analisi combinata; *c*) una descrizione delle modalità di estrazione dei dati dai singoli studi; *d*) una giustificazione delle assunzioni e delle conclusioni derivate dalla analisi statistica dei risultati.

**Conclusioni**

Oltre all'impatto di tipo conoscitivo cui si è fatto cenno nei paragrafi precedenti, la m.-a. avrà verosimilmente conseguenze sia sul modo di condurre e riferire i risultati dei singoli studi clinici sia su quello di impostare la ricerca futura nel campo degli studi di efficacia. Per quanto riguarda il primo aspetto è indubbio che vi sarà una sempre maggiore attenzione agli aspetti metodologici relativi al disegno e alla conduzione degli studi oltreché una maggiore accuratezza nel modo di riferire i risultati per rendere più semplice l'esecuzione di future m.-a. Per quanto riguarda la pianificazione di futuri studi, ci si può attendere che dopo una m.-a. su un determinato argomento chi vorrà intraprendere ulteriori studi si porrà le seguenti domande: è ancora etico un nuovo studio dopo una m.-a.?; quali domande di ricerca sono ancora aperte dopo una m.-a.?; quale è la dimensione realistica che un nuovo studio deve avere per fornire risposte di una qualche utilità su quesiti ancora aperti?

Per buona parte di queste questioni, comunque, l'esperienza sull'impatto della m.-a. sul modo di fare ricerca potrà essere realmente accumulata solamente negli anni a venire.

**Bibliografia**

Berlin J. A., Laird N. *et al.*, *Stat. Med.*, 1989, **8**, 141-151.
DerSimonian R. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1982, **306**, 1332-1337.
Gelber R. H., Goldhrish A., *J. Clin. Oncol.*, 1986, **4**, 1696-1703.
Glass G. V., McGaw B. *et al.*. *Meta-analysis in Social Research*, 1981, Sage Publications, Beverly Hills, CA.
Hedges L. V., Olkin I., *Statistical Methods for Meta-analysis*, 1985, Academic Press, Orlando, U.S.A.
Liberati A., *Ricerca & Pratica*, 1986, **11**, 141-152.
Liberati A., *Giorn. Ital. Cardiol.*, 1989, **19**, 1068.
Light R. J., Pillemer D. B., *Summing up. The Science of Reviewing Research*, 1984, Harvard University Press, Cambridge.
Sacks H. S., Berrier J. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1987, **316**, 450-455.
Yusuf S., Collins R. *et al.*, *Stat. Med.*, 1984, **3**, 409-422.

ALESSANDRO LIBERATI

## METASTASI [v. vol. IX. col. 1022]

SOMMARIO



**Definizione**

La *metastasi* è il trasferimento di malattia da un organo a un altro non connesso direttamente al primo. Nel caso delle neoplasie maligne questo processo si realizza attraverso il trasferimento di cellule tumorali a distanza dalla sede di origine. Crescita invasiva e capacità metastatica sono caratteristiche peculiari dei tumori maligni.

**Eterogeneità del fenotipo metastatico**

Al momento della diagnosi, una neoplasia è costituita da sottopopolazioni cellulari con proprietà biologiche diverse (fig. 1). Questa eterogeneità, conseguente a una instabilità genetica intrinseca o acquisita, si manifesta attraverso molteplici espressioni fenotipiche (caratteristiche di accrescimento, produzione di enzimi, ormoni, recettori di superficie, chemiosensibilità, etc.), inclusa la diversa propensione all'invasione e alla metastatizzazione. I condizionamenti ambientali selezionano, tra le diverse popolazioni preesistenti, quelle competitivamente più adatte a sopravvivere. La cellula tumorale che riesce a dar luogo a una colonia metastatica possiede, infatti, un potenziale metastatico solitamente superiore a quello della neoplasia primitiva non selezionata.

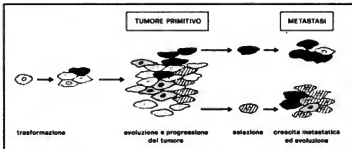
Le m. possono avere una origine clonale e m. differenti possono originare dalla proliferazione di una singola cellula. Il processo di metastatizzazione inizia precocemente nel corso dello sviluppo del tumore primario (con la vascolarizzazione) e aumenta col tempo (per il cancro della mammella questo si verifica allorché il tumore primario è inferiore a 0,125 cm). Istotipo e aggressività intrinseca della neoplasia sono i principali determinanti del potenziale metastatico.

**Il processo metastatico**

Il processo di metastatizzazione è una complessa cascata di interazioni tumore-ospite che si realizza attraverso una successione definita di eventi, tutti indispensabili per la produzione di colonie metastatiche vitali (fig. 2). Durante l'intero processo, le cellule tumorali devono prevalere sulle difese dell'ospite. Con la progressione del tumore dallo



Digitized by Google

Fig. 1. La popolazione di cellule di una neoplasia comprende sottopopolazioni con caratteristiche biologiche diverse. Possono variare il cariotipo, la produzione ormonale, la sensibilità ai farmaci, i recettori della superficie cellulare e così via. Simili differenze derivano da alterazioni genetiche che possono comparire in diverse fasi della crescita neoplastica, così che diverse m. di uno stesso tumore possono essere costituite in prevalenza da cellule di un tipo o di un altro.

stato *in situ* a quello di tumore invasivo si realizza, attraverso la distruzione della membrana basale e la successiva infiltrazione dello stroma circostante, la prima tappa del processo di metastatizzazione. Raggiunto lo stroma vascolarizzato e superata la membrana basale endoteliale, le cellule neoplastiche distaccate dal tumore primitivo invadono i vasi linfatici e sanguigni (preesistenti e neoformati) e penetrano in circolo. Nel 90% dei casi le cellule metastatiche circolanti si arrestano e abbandonano il letto circolatorio a livello di venule e capillari di organi distanti. Il processo di stravaso si realizza mediante l'arresto delle cellule tumorali e la loro adesione all'endotelio che entro poche ore va incontro a retrazione esponendo la membrana basale sottostante.

Per mezzo di recettori di superficie le cellule tumorali aderiscono alla membrana basale, mentre la migrazione delle cellule endoteliali le isola dal circolo sanguigno. Entro 8-24 ore le cellule metastatiche distruggono localmente la membrana basale, emettono pseudopodi e migrano nello stroma extravasale originando una colonia metastatica. L'angiogenesi è indispensabile affinché la colonia metastatica originata dalla proliferazione delle cellule stravasate superi i 0,5 mm.

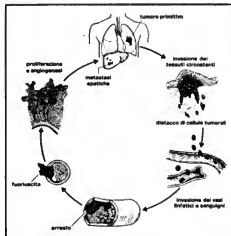
Fig. 2. Fasi di sviluppo delle m. neoplastiche.

A livello arteriolare lo stravaso è preceduto da una completa embolizzazione luminale (in 2-4 settimane) da parte delle cellule tumorali proliferanti. Il danno meccanico endoteliale che ne consegue espone la membrana basale e rende possibile l'invasione della parete arteriosa da parte delle cellule più periferiche dell'embolo neoplastico.

In mancanza di una adeguata rete linfatica intratumorale, l'infiltrazione dei linfatici è possibile solo alla periferia del tumore. Attraverso i canali linfatici, le cellule tumorali raggiungono prima i seni sottocapsulari dei linfonodi regionali, quindi, entro 1 ora, i linfatici efferenti e, più tardi, attraverso le connessioni linfovenose passano in circolo. Sebbene un gran numero di cellule tumorali si distacchi continuamente dal tumore primitivo per raggiungere il circolo linfatico e sanguigno, solo una minima percentuale di cellule circolanti dà luogo a m. (< 0,01%).

La distribuzione anatomica delle m. dipende principalmente dal tipo istologico e dalla sede del tumore primitivo. Il primo filtro capillare a valle del tumore costituisce solitamente la sede in cui le cellule circolanti si arrestano per dar luogo a riproduzioni metastatiche (al fegato per tumori del grosso intestino, ai polmoni per i sarcomi, all'encefalo per i tumori polmonari). L'organotropismo metastatico caratteristico di alcune neoplasie (m. ovariche da carcinoma della mammella, m. ossee da carcinoma renale, etc.) richiede tuttavia l'intervento di altri fattori e può realizzarsi attraverso due meccanismi principali. Uno è la disseminazione metastatica non selettiva con crescita preferenziale in organi capaci di fornire particolari fattori di crescita; un secondo è la disseminazione metastatica selettiva all'organo per la presenza di determinanti endoteliali organo-specifici che indirizzano l'adesione preferenziale delle cellule tumorali o di fattori chemiotattici a diffusione locale che ne stimolano lo stravaso.

Molte tappe del processo di metastatizzazione (progressione tumorale, invasione vascolare e parenchimale, etc.) concernono l'interazione tra cellula tumorale e costituenti della matrice extracellulare (membrana basale e stroma interstiziale).

Gli eventi biochimici che sono alla base dell'invasione della matrice extracellulare possono essere schematizzati in tre tappe successive. La prima è l'adesione cellulare alla matrice attraverso specifici recettori di membrana per glicoproteine come *laminina* e *fibronectina* (v.*); la seconda è la secrezione di enzimi idrolitici capaci di degradare la matrice in vicinanza della superficie cellulare; la terza, infine,





Digitized by Google

è la motilità cellulare nell'area di sovvertimento della matrice, eventualmente guidata da fattori chemiotattici.

I recettori di superficie per la *laminina*, una glicoproteina a struttura cruciforme con molteplici funzioni biologiche, mediano l'adesione delle cellule tumorali alla membrana basale. In carcinomi umani sono state osservate alterazioni del numero, distribuzione e stato di occupazione di questi recettori.

Recettori liberi per la laminina sono rinvenuti in maggior numero in campioni di carcinoma mammario e di colon piuttosto che in lesioni benigne. Inoltre, in forme invasive di carcinoma la polarità distributiva dei recettori (nell'epitelio normale al polo cellulare basale in corrispondenza della membrana basale) può andare perduta. L'occupazione dei recettori per la laminina riduce significativamente la capacità metastatica per via ematogena attraverso il blocco dell'adesione cellulare alla membrana basale endoteliale.

Le *integrine*, un altro gruppo di glicoproteine della superficie cellulare leganti diverse proteine adesive e capaci di alterare la forma cellulare attraverso componenti del citoscheletro, possono mediare l'adesione tra cellule tumorali circolanti e cellule endoteliali. La loro funzione è inibita da *peptidi RGD* (correlati alla sequenza *Arg-Gli-Asp* della fibronectina). In modelli sperimentali la capacità metastatica di cellule tumorali è abolita dalla contemporanea somministrazione di peptidi RGD.

L'invasione tumorale della matrice extracellulare (membrane basali e stroma connettivale interstiziale) è un processo attivo mediato da una serie di enzimi diretti contro i costituenti specifici della matrice (vari tipi di collageno, laminina, fibronectina, etc.). Le principali classi di proteinasi coinvolte sono le proteinasi della serina, le *metalloproteinasi* neutre e le proteinasi della cisteina.

L'espressione di una attivazione del plasminogeno (solitamente di tipo urochinasico) e la sensibilità delle glicoproteine della matrice alla degradazione proteolitica della plasmina sono state accertate in diversi sistemi sperimentali. Gli attivatori del plasminogeno intervengono nell'invasione tumorale e in alcuni modelli animali il grado di attivazione del plasminogeno correla positivamente con il potenziale metastatico. Livelli di urochinasi-mRNA più elevati rispetto ai tessuti di origine sono stati recentemente osservati in campioni di carcinomi polmonari e mammari.

Un ruolo importante nei processi di invasione e metastatizzazione è svolto dalle *collagenasi* (metalloproteinasi dipendenti da calcio e zinco, attive in ambiente neutro) che sono responsabili della frammentazione del collageno. Attività collagenasica interstiziale (capace di degradare collageno di tipo I, II e III) è stata osservata in diversi tumori umani e correla talora con l'aggressività della neoplasia (carcinoma vescicale). Differenze strutturali e di suscettibilità alla degradazione enzimatica caratterizzano il collageno della membrana basale (tipo IV e V). Come le cellule endoteliali e i granulociti, le cellule tumorali producono una metalloproteinasi specifica capace di degradare in modo caratteristico il collageno di tipo IV. Anche l'attività collagenolitica di tipo IV correla con l'attività metastatica in modelli animali, mentre tumori umani altamente aggressivi presentano livelli di collagenasi più elevati rispetto ai tessuti di origine. L'attività collagenasica di tipo IV può essere considerata un *marker* della capacità invasiva e forse del potenziale metastatico di alcuni tumori umani. In particolare, metodi immunoistochimici con anticorpi anticollagenasi di tipo IV consentono di evidenziare l'invasione di cellule di carcinoma della mammella e di colon nonché le m. linfonodali. È stata inoltre osservata una possibile connessione tra aumento dell'attività collagenasica di tipo IV e induzione di un fenotipo metastatico.

Anche la *catepsina B* (una proteinasi della cisteina con attività endopeptidasica), e una attività enzimatica di tipo endoglicosidasico (avente come substrato i proteoglicani della matrice extracellulare) appaiono coinvolte nei processi di invasione e metastatizzazione. Una correlazione tra attività catepsinica B e potenziale metastatico è stata accertata in modelli animali ed in tumori umani, mentre una correlazione positiva tra livelli di attività eparinasica e potenziale metastatico è stata dimostrata in cellule di melanoma umano.

Nel complesso, l'aumentata espressione di molteplici attività enzimatiche capaci di degradare specifici componenti della matrice extracellulare è correlata con il potenziale invasivo e metastatico di molti tumori. Le cellule tumorali possiedono un variabile spettro di attività enzimatica diretta contro i costituenti della matrice extracellulare che può dar conto dei diversi comportamenti nei confronti dell'ospite. La regolazione delle attività proteolitiche si realizza a livello di interazione cellula tumorale-ospite e per mezzo di inibitori delle proteasi prodotte dall'ospite o dal tumore stesso. Le cellule tumorali invasive possono altresì dimostrare una diversa risposta ai segnali regolatori.

Il distacco e l'infiltrazione delle diverse strutture tessutali implicano una intrinseca capacità di locomozione da parte della cellula neoplastica. I fattori chemiotattici prodotti dall'ospite o dall'interazione tumore-ospite, pur essendo capaci di indirizzare direzionalmente la motilità cellulare, non possono garantire una motilità sufficiente a spiegare la spiccata invasività di alcune neoplasie. Tra i molteplici fattori di crescita di tipo autocrino (*citochine*), le cellule tumorali elaborano fattori di motilità attraverso i quali promuovere l'invasione e la metastatizzazione e provvisti anche di capacità di reclutamento di altre cellule tumorali adiacenti. In modelli sperimentali è stata dimostrata la presenza di fattori autocrini stimolanti la motilità in modo proporzionale alla loro concentrazione e dotati di effetti chemiocinetico (motilità casuale) e chemiotattico (motilità direzionale). I fattori di motilità autocrina attivano un complesso sistema di trasduzione che coordina rapidi cambiamenti di conformazione del citoscheletro mediati da costituenti lipidici della membrana quali le *fosfolipasi C* e $A_2$. La migrazione cellulare consiste di tappe successive di adesione e distacco che si traducono negli atti elementari della locomozione: trazione e propulsione. Indispensabile per tale processo è la protrusione di pseudopodi indotti dal fattore autocrino di motilità in misura proporzionale alla durata e alla dose dello stimolo. Questi pseudopodi presentano inoltre una elevata concentrazione di recettori di superficie per alcuni costituenti della matrice come laminina e fibronectina.

Durante le prime fasi del processo di invasione e metastatizzazione, in risposta alla stimolazione autocrina di citochine come il fattore di motilità, la cellula emette pseudopodi esplorativi dotati di alti livelli di recettori per i costituenti della matrice extracellulare, ottenendo segnali utili a indirizzare la motilità. Gli pseudopodi permettono inoltre la trazione e la propulsione necessarie alla locomozione facendosi strada nella matrice extracellulare attraverso la liberazione locale di proteasi specifiche che ne inducono la lisi. Durante l'invasione attraverso le barriere biologiche le cellule tumorali vengono a contatto con i costituenti delle membrane basali (collageno di tipo IV e laminina) e dello stroma interstiziale (collageno di tipo I e fibronectina). Specifici recettori espressi sulla superficie cellulare (recettori per la laminina, recettori di riconoscimento della sequenza *Arg-Gli-Asp* [RGD], etc.) rendono possibile e governano l'interazione con tali costituenti.

**Genetica molecolare delle metastasi**

Il complesso dei meccanismi coinvolti nel processo di metastatizzazione implica l'espressione a livelli adeguati di prodotti genetici diversi che intervengono nella regolazione dell'accrescimento, delle proprietà adesive, dell'attività proteolitica, della motilità cellulare, del riconoscimento immunitario del tumore da parte dell'ospite, etc. I caratteri espressi nel fenotipo metastatico possono variare in rapporto all'istotipo tumorale. Con lo sviluppo di appropriati modelli sperimentali si è resa possibile l'identificazione di un numero crescente di geni trasformanti (*oncogèni*) coinvolti nelle alterazioni genetiche che portano ad accrescimento tumorale, invasione e metastatizzazione.





Digitized by Google

La *transfezione* di oncogèni, il trasferimento cioè degli stessi mediante interventi di ingegneria genetica, in cellule idonee conferisce a queste ultime la capacità di accrescimento tumorale una volta inoculate in animali, ma non necessariamente capacità invasive e metastatiche essendo il fenotipo tumorigenico e quello metastatico indipendenti. Alcune classi di oncogèni, come quelli della famiglia *H-ras*, sono tuttavia capaci di indurre in cellule transfettate sensibili (NIH-3T3) la comparsa di un fenotipo metastatico completo attraverso l'espressione di una cascata di geni che ne esaltano l'aggressività intrinseca. In questi modelli sperimentali è stato possibile dimostrare una correlazione diretta tra numero delle m. e livelli di espressione dell'oncogène *ras* codificante la proteina $P_{21}$. Analoghi risultati sono stati ottenuti per transfezione di modelli cellulari diploidi. La mancanza di adeguati fattori di cooperazione o la presenza di soppressori che limitano la capacità dell'oncogène *H-ras* di indurre la comparsa di un fenotipo metastatico in cellule non permissive, provano l'esistenza di geni normali che impediscono l'attivazione della cascata metastatica indotta da oncogèni del tipo *ras* (*antioncogèni*; v.*).

Sebbene il meccanismo con cui l'oncogène *H-ras* conferisce capacità metastatica a cellule sensibili non sia conosciuto, esso deve necessariamente coinvolgere l'attivazione di una cascata multigenica giacché le cellule *H-ras* acquisiscono molteplici proprietà come: adesività, invasività, motilità, etc. L'ipotesi più attendibile riguarda il coinvolgimento della proteina $P_{21}$ (codificata da *ras*) nel meccanismo a cascata della metastatizzazione. Altri oncogèni (*mos*, *raf*, *src*, *fes* e *fms*) si sono dimostrati capaci di indurre m. in sistemi animali.

La transfezione di oncogèni rappresenta un modello innovativo per lo studio dei meccanismi biochimici della metastatizzazione. Con l'uso di appropriate combinazioni di oncogèni *H-ras* e potenziatori virali, o altri oncogèni, è possibile conferire a cellule diploidi permissive gradi differenti di trasformazione: tumorigenicità associata o meno a diversi livelli di capacità metastatica. L'attivazione di *proto-oncogèni* (geni normali che possono diventare oncogèni in seguito ad attivazione) comunque realizzata (amplificazione, mutazione, traslocazione cromosomica, inserimento di un promotore retrovirale in prossimità del protooncogène) può contribuire alla trasformazione e progressione del fenotipo metastatico. Alterazioni degli oncogèni c-*myc*, c-*ras* e c-*myb* sono state osservate solo in campioni tumorali ma non nei tessuti normali provenienti dagli stessi pazienti. Tali alterazioni potrebbero determinare l'iperespressione di prodotti codificati dall'oncogène capaci di conferire qualche vantaggio selettivo alla popolazione tumorale promuovendone l'espansione.

Differenti classi di oncogèni sono coinvolte nei diversi tipi istologici.

Nel carcinoma mammario umano l'amplificazione dell'oncogène *HER-2/neu* correla significativamente con dimensioni del tumore, numero dei linfonodi ascellari metastatici, stato dei recettori estrogenici e sopravvivenza globale. Anche l'iperespressione dell'oncogène *H-ras* (e dei livelli di proteina $P_{21}$) è stata correlata con la presenza di m. ai linfonodi ascellari. Un'amplificazione dell'oncogène *N-myc* è stata correlata a una prognosi sfavorevole in pazienti con neuroblastoma con una sopravvivenza libera da progressione a 18 mesi compresa tra il 70 ed il 5% per tumori con un numero di copie di *N-myc* rispettivamente di 1 o di più di 10. L'amplificazione di *N-myc* può facilitare la crescita metastatica di cellule di neuroblastoma.

Le modificazioni biochimiche associate al fenotipo metastatico possono rappresentare la base di una strategia capace di maggiore selettività diagnostica e terapeutica.

L'aggressività tumorale potrebbe essere accuratamente definita mediante determinazione di prodotti genetici espressi dal fenotipo metastatico (oncogèni del tipo *ras*, *neu*, etc., antioncogèni, geni codificanti recettori, enzimi, citochine implicati nell'invasione tumorale) e l'identificazione delle modificazioni costituenti dell'ospite da parte del tumore (alterazioni delle membrane basali in sede di invasione). La preparazione di anticorpi per questi nuovi marcatori potrebbe consentirne l'identificazione su preparati istologici (come nella diagnosi della microinvasione del cancro della mammella e del grosso intestino). Il dosaggio nei liquidi biologici di alcune proteine associate all'invasione e metastatizzazione (enzimi e citochine prodotti dalla cellula tumorale) potrebbe permettere la diagnosi delle micrometastasi, la stima della massa tumorale, etc. Inoltre, la somministrazione di anticorpi per queste proteine potrebbe fornire immagini scintigrafiche o rappresentare il veicolo selettivo per agenti tossici.

La migliore comprensione dei meccanismi di invasione tumorale e di metastatizzazione può rendere possibile lo sviluppo di approcci innovativi basati sull'impiego di agenti e strategie non convenzionali aventi come bersaglio meccanismi cruciali della cascata metastatica.

**Significato clinico e principi di terapia delle metastasi**

Invasione e metastatizzazione sono le principali cause di insuccesso nel trattamento del cancro. Già alla diagnosi, circa il 60% dei pazienti con tumori solidi presenta m. clinicamente dimostrabili o micrometastasi occulte che condizioneranno il fallimento dei trattamenti locoregionali.

Le caratteristiche cliniche della malattia metastatica (epoca di comparsa, numero, dimensioni, distribuzione anatomica, etc.), a parte casi ben selezionati, limitano sostanzialmente l'efficacia di trattamenti locali chirurgici e radianti. Nonostante il rinnovato interesse degli ultimi anni, indicazioni e limiti della terapia chirurgica delle m. (*metastasectomia*) restano materia controversa. In linee generali, le condizioni del paziente, l'assenza di m. in altri organi, l'intervallo libero di malattia, la suscettibilità ai trattamenti medici (ormonali e chemioterapici) e radianti hanno un peso prognostico rilevante, indipendentemente dalla sede interessata e dalla pura resecabilità della lesione. D'altra parte, l'esistenza nel contesto del tumore primitivo e delle m. di sottopopolazioni eterogenee per caratteristiche di accrescimento, profilo antigenico, ormonosensibilità, chemiosensibilità, capacità metastatica, etc., costituisce il maggiore ostacolo allo sviluppo di altre efficaci modalità terapeutiche (immunologiche, ormonali, citotossiche).

È opinione comune che, nella terapia del cancro, la comparsa di m. a distanza segni solitamente il passaggio dalla guaribilità alla palliazione. Nonostante negli ultimi anni il numero delle eccezioni a questa asserzione si sia considerevolmente accresciuto (tumori germinali del testicolo non seminomi, linfomi non-Hodgkin a prognosi sfavorevole, etc.), appare sempre più evidente come la guaribilità della maggior parte delle neoplasie maligne, senza evidenza clinica di m. al momento della diagnosi e pertanto suscettibili di trattamenti locali (chirurgici e radianti) "radicali", sia limitata dalla comparsa di malattia a distanza dopo un intervallo libero variabile, solitamente correlato con lo stadio alla diagnosi. Circa 1/3 delle pazienti con carcinoma della mammella muore dopo oltre 5 anni dall'intervento per diretta conseguenza di «m. quiescenti».

Tre sono i possibili meccanismi responsabili della comparsa della malattia a distanza di tempo dall'evento primario: *a*) le restrizioni immunologiche che mantengono un equilibrio tra proliferazione e morte cellulare; *b*) la dipen-





Digitized by Google

denza del tumore da fattori di crescita dell'ospite; c) la mancata vascolarizzazione che limita lo sviluppo della m.

Per le neoplasie già clinicamente in fase metastatica alla diagnosi, l'emergenza di varianti chemioresistenti (eventualmente anche dopo una remissione completa di lunga durata) segna invariabilmente nella maggiore parte dei casi il fallimento terapeutico. Anche la presenza di «santuari farmacologici» (S.N.C.) rappresenta una importante causa di fallimento della chemioterapia antiproliferativa.

Negli ultimi anni, sulla base di modelli sperimentali appropriati, sono andati affermandosi nuovi approcci terapeutici basati sull'impiego precoce della chemioterapia nell'intento prioritario di aggredire la malattia in fase micrometastatica, allorché per motivi cinetici la massa tumorale è più suscettibile all'azione degli agenti citotossici e vi sono meno probabilità di varianti farmacoresistenti.

Al momento della diagnosi una neoplasia di 1 $cm^3$ e del peso di 1 g contiene approssimativamente $10^9$ cellule. Assumendo che abbia avuto origine da una singola cellula trasformata essa avrà subito 30 raddoppiamenti per raggiungere queste dimensioni. Ne basteranno altri 10 perché la massa tumorale raggiunga la taglia critica (incompatibile con la vita) di 1 kg ($10^{12}$ cellule). Sebbene la velocità di accrescimento dipenda dalla durata del tempo di raddoppiamento del tumore (da 30 giorni a meno di 1 anno a seconda del tipo), ne deriva comunque che al momento della diagnosi la storia naturale del tumore è già relativamente avanzata. Poiché la cura richiede la totale distruzione di tutte le cellule tumorali, anche una eradicazione del 99,9% delle cellule presenti al momento in cui la massa diventa diagnosticabile (1 cm) manterrà vitali e capaci di riproduzione e diversificazioni fenotipiche (mutazioni) $10^6$ cellule.

L'emergenza del fenotipo metastatico consegue a una mutazione spontanea e casuale all'interno di una popolazione tumorale, la cui probabilità è direttamente correlata alla taglia del tumore primitivo e può essere descritta, in analogia al fenotipo resistente, dal modello matematico di Goldie e Coldman. Nel caso in cui la generazione di m. fosse un fenomeno graduale (ipotesi non mutazionale) il numero di colonie aumenterebbe col tempo, ma una disseminazione sarebbe possibile anche durante le fasi iniziali di sviluppo del tumore. Se al contrario, al pari di altre mutazioni spontanee, la generazione di varianti metastatiche fosse limitata al raggiungimento di una massa critica prima della quale la probabilità di una mutazione fosse nulla (origine mutazionale), un intervento terapeutico precoce potrebbe garantire l'eradicazione della malattia. Dati sperimentali sembrano favorire questo modello e costituiscono uno dei principi su cui si basa l'applicazione clinica della chemioterapia adiuvante e neoadiuvante. In casi ad alto rischio per lo sviluppo di m., l'impiego della chemioterapia immediatamente dopo (adiuvante) o addirittura prima dei trattamenti locali (neoadiuvante) si è negli ultimi anni largamente diffuso in campo clinico. Per alcune neoplasie (e per definiti gruppi di rischio) questo approccio terapeutico costituisce attualmente pratica standard (carcinoma della mammella con linfonodi ascellari positivi). Per altre neoplasie sono necessari ulteriori studi per valutarne attività e indicazioni (carcinomi del testicolo, del colon, dell'ovaio, sarcomi delle estremità, etc.). Molto promettente ma ancora non definitivamente accertato il ruolo della chemioterapia neoadiuvante nel trattamento dell'osteosarcoma, dei carcinomi dell'ano, della vescica, della mammella e nei carcinomi del distretto cervicofacciale.

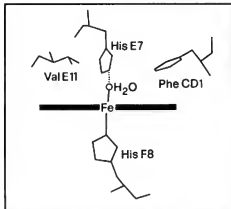
**Bibliografia**

Egan S. E *et al.*, *Mol. Cell. Biol.*, 1987, **7**, 830.
Fidler I. J., Hart I. R., *Science*, 1982, **217**, 998.
Fidler I. J., Talmadge J. E., *Cancer Res.*, 1986, **46**, 5167.
Fidler I. J., Balch C. M., *Curr. Probl. Surg.*, 1987, **24**, 137.
Fidler I. J., *The Biology of Human Cancer Metastasis and its Implications for Therapy*. in ASCO Booklet, 1989, San Francisco.
Fidler I. J., Radinsky R., *J. Nat. Cancer Inst.*, 1990, **82** (3), 166.
Goldfarb R. H., Liotta L. A., *Semin. Thromb. Hemost.*, 1986, **12**, 294.
Goldie J. H., *Seminars in Oncology*, 1987, **14** (1), 1.
Guirguis R. *et al.*, *Nature*, 1987, **329**, 261.
Hynes R. O., *Cell*, 1987, **48**, 549.
Lapis K., Paku S., Liotta L. A., *Clin. Exp. Metastasis*, 1988, **6**, 73.
Liotta L. A., Rao C. N., *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1985, **460**, 33.
Liotta L. A., *Cancer Res.*, 1986, **46**, 1.
Liotta L. A., Mandler R., Muraro G. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1986, **83**, 3302.
Liotta L. A., Stetler-Stevenson W. G., *Principles of Molecular Cell Biology of Cancer and Cancer Metastasis*, in De Vita V. T., Hellman S., Rosenberg S. E. eds., *Cancer Principles and Practice of Oncology*, 1989, Lippincott, 3 ed., Philadelphia.
Nicolson G. L. *et al.*, *Invasion Metastasis*, 1985, **5**, 144.
Nicolson G. L., *Cancer Res.*, 1987, **47**, 1473.
Nowell P. G., *N. Engl. J. Med.*, 1988, **319**, 575.
Poste G., *Cancer Treat. Rep.*, 1986, **70**, 1223.
Shirrmacher V., *Adv. Cancer Res.*, 1985, **43**, 1.
Slamon D. J., Clark G. M., Wong S. G. *et al.*, *Science*, 1987, **235**, 177.
Vogelstein B. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1988, **319**, 525.
Vogelstein B., *Nature*, 1990, **348**, 681.
Wewer U. M., Taraboletti G., Sobel M. E. *et al.*, *Cancer Res.*, 1987, **47**, 5691.
Zetter B. R., *N. Engl. J. Med.*, 1990, **322**, 605.

CAMILLO FRANCESCO POLLERA

## METEMOGLOBINA [v. vol. IX, col. 1035]

La metemoglobina [MetHb] è il prodotto di ossidazione dell'atomo di ferro dei gruppi eme dell'emoglobina, che passa dallo stato ferroso, fisiologico, allo stato ferrico, perdendo la capacità di legare l'ossigeno. In entrambi i tipi di subunità della MetHb, l'atomo di ferro dell'eme allo stato ferrico coordina, in sesta posizione, uno ione ossidrile a pH alcalino, ovvero generalmente una molecola d'acqua a pH neutro; quest'ultima è stabilizzata dalla formazione di un legame idrogeno con l'atomo di azoto in posizione ε del residuo imidazolico quando è presente in posizione E7 (fig. 1) (v. EMOGLOBINE; MIOGLOBINE). A differenza della emoglobina nativa, la MetHb mostra una significativa tendenza a formare emicromi, ovvero complessi dell'atomo di ferro dell'eme in cui il legante coordinato in sesta posizione è rappresentato generalmente dal residuo imidazolico presente in posizione E7 nella porzione distale del centro di reazione.

La formazione dei complessi della MetHb con i leganti è conforme al meccanismo semplice tipico delle macromolecole che presentano un singolo centro attivo (v. MIOGLOBINE), ovvero molteplici centri di reazione funzionalmente non interferenti l'un l'altro. Ciò implica che, a differenza del processo di interazione dell'emoglobina con i leganti della forma ferrosa (v. EMOGLOBINE), l'interazione dei leganti con ciascun eme in forma ferrica non risente del grado di saturazione da parte del legante degli altri centri di reazione, ovvero del grado di saturazione globale della macromolecola. Questo comportamento non cooperativo fra i diversi centri di reazione trova il suo maggiore sostegno nell'identificazione, mediante studi cristallografici e spettroscopici, di una unica conformazione della MetHb in assenza e in presenza di leganti; tale conformazione è molto simile a quella osservata nell'emoglobina in forma ferrosa nello stato R, nella mioglobina in forma ferrosa e nella mioglobina in forma ferrica (v. EMOGLOBINE; MIOGLOBINE). Ciò è dovuto al fatto che, anche in assenza di leganti, l'atomo di ferro degli emi della MetHb coordina in sesta posizione una molecola d'acqua (fig. 1), in grado di spostare la conformazione quaternaria del tetramero nello stato R



Digitized by Google

Fig. 1. Rappresentazione schematica del complesso formato dall'atomo di ferro dell'eme allo stato ferrico delle subunità di tipo β dell'emoglobina umana $A_0$ con la molecola d'acqua. La *linea punteggiata* rappresenta il legame idrogeno, presente nella porzione distale della tasca dell'eme, fra l'atomo di ossigeno della molecola d'acqua e l'atomo di azoto in posizione ε del residuo imidazolico in posizione E7. La *linea spessa* rappresenta il piano della protoporfirina IX. Il complesso formato dall'atomo di ferro dell'eme allo stato ferrico delle subunità di tipo α dell'emoglobina umana $A_0$ con la molecola d'acqua è equivalente a quello osservato nelle subunità di tipo β. (*Modificata e ridisegnata da Liddington R., Derewenda Z. et al.*, 1988).

(v. EMOGLOBINE). Pertanto, l'interazione dei leganti con la MetHb è accompagnata generalmente soltanto da piccole variazioni conformazionali a livello dei centri di reazione, specifiche di ciascun legante, senza influenzare significativamente la conformazione del tetramero nella sua globalità. Analogamente a quanto noto circa il controllo della reattività verso i leganti dell'emoglobina nativa in forma ferrosa nello stato R, l'affinità della MetHb per i leganti è generalmente poco sensibile alle variazioni dei parametri chimicofisici del mezzo, quali il pH.

L'insieme delle osservazioni strutturali e funzionali inerenti l'emoglobina nativa in forma ferrosa e la MetHb indica che lo stato di ossidazione dell'atomo di ferro degli emi è in relazione ai diversi meccanismi con cui i leganti interagiscono con il tetramero, influenzando in gradi diversi la struttura della macromolecola.

V. anche: EMOGLOBINE*; MIOGLOBINE*.

**Bibliografia**


Antonini E., Brunori M., 21. *Hemoglobin and Myoglobin in Their Reactions with Ligands*, in Neuberger A., Tatum E. L. eds., *Frontiers of Biology*, 1971, North Holland, Amsterdam, London.

Antonini E., Rossi-Bernardi L., Chiancone E. eds., *Methods in Enzymology*. 76. *Hemoglobins*, 1981, Academic Press, New York.

Baldwin J., Chothia C., *J. Mol. Biol.*, 1979, **129**, 175.

Beetlestone J. G., Adeosum O. S., Goddard J. E. *et al.*, *J. Chem. Soc. (Dalton Trans.)*, 1976, 1251.

Brunori M., Coletta M., Giardina B., *Oxygen Carrier Proteins*, in Harrison P. M. ed., *Topics of Molecular and Structural Biology*. 7. *Metalloproteins*, 1985, Macmillan, London, p. 263.

Bunn H. F., Forget B. G., *Hemoglobin: Molecular, Genetic and Clinical Aspects*, 1986, Saunders, Philadelphia.

Dickerson R. E., Geis I., *Hemoglobin: Structure, Function, Evolution, and Pathology*, 1983, The Benjamin/Cummings, Menlo Park.

Fermi G., Perutz M. F., 2. *Haemoglobin and Myoglobin*, in Phillips D. C., Richards F. M. eds., *Atlas of Molecular Structures in Biology*, 1981, Clarendon Press, Oxford.

Liddington R., Derewenda Z. *et al.*, *Nature*, 1988, **331**, 725.

Perutz M. F., *Annu. Rev. Biochem.*, 1979, **48**, 327.


PAOLO ASCENZI E MASSIMO COLETTA

## METEMOGLOBINEMIA [v. vol. IX, col. 1037]

### Effetto della metemoglobina sulla reattività dell'emoglobina con l'ossigeno: implicazioni cliniche

La presenza dell'emoglobina allo stato ferrico (metemoglobina [MetHb]) nel circolo non solo riduce la quota della emoglobina allo stato ferroso [Hb], e pertanto la capacità del sangue di trasportare l'ossigeno, ma ne modifica sensibilmente anche la reattività. In particolare, in presenza di MetHb, l'affinità dell'ossigeno per la Hb aumenta (ovvero la $P_{50}$ diminuisce) e la cooperatività fra gli emi (espressa dal coefficiente di Hill $n$ [v. EMOGLOBINE*]) si riduce. In presenza di concentrazioni crescenti di MetHb, la combinazione dell'ossigeno con la Hb è caratterizzata da valori dei parametri termodinamici ($P_{50}$ e $n$) sempre più prossimi a quelli del tetramero nella conformazione tipica dello stato R (v. EMOGLOBINE*) anche nella forma desossigenata (fig. 1; tab. I). Tale comportamento trova puntuale riscontro nelle proprietà strutturali della Hb e della MetHb: infatti, la MetHb presenta una conformazione non dissimile da quella tipica dello stato R della Hb. Pertanto, l'ossidazione di uno o più atomi di ferro della Hb sposta, anche nella forma desossigenata del tetramero, l'equilibrio fra la conformazione a bassa affinità e quella ad alta affinità (stato T e stato R, rispettivamente) in favore di quest'ultima, con il conseguente aumento della reattività verso l'ossigeno. L'aumentata affinità dell'ossigeno per la Hb e la riduzione della cooperatività fra gli emi, in presenza di MetHb, ha come conseguenza l'ulteriore riduzione della quantità di ossigeno

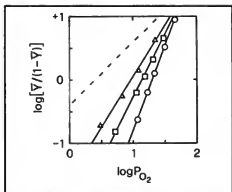



Fig. 1. Le *linee continue* rappresentano le curve di saturazione con l'ossigeno della Hb umana, in assenza (○) ed in presenza (28%, □; 54%, △) di MetHb (la $P_{O_2}$ è espressa in mmHg). La *lineo tratteggiata* rappresenta la curva di saturazione con l'ossigeno della Hb umana nella conformazione tipica dello stato R anche nella forma desossigenata. I dati sono stati ottenuti a pH 7,4 ed alla temperatura di 37 °C, in tampone fosfato (0,6 *M*). Le curve di equilibrio con l'ossigeno sono state analizzate mediante l'equazione di Hill e ciò ha permesso di determinare i valori dei parametri termodinamici ($P_{50}$ e $n$) riportati nella tab. I. (*Ridisegnata da Darling R. C., Roughton F. J. W., 1942*).





Digitized by Google

**TAB. I. VALORI DEI PARAMETRI TERMODINAMICI ($P_{50}$, $n$) RELATIVI ALL'INTERAZIONE DELL'OSSIGENO CON LA Hb UMANA, IN ASSENZA ED IN PRESENZA DI MetHb[a]**

| MetHb (%) | $P_{50}$ (mmHg) | $n$ |
|---|---|---|
| 0 | 19,9 | 2,7 |
| 28 | 13,8 | 2,0 |
| 54 | 9,3 | 1,6 |
| 0 | 2,5[b] | 1,0[b] |

[a] I valori dei parametri termodinamici ($P_{50}$ e $n$) relativi all'interazione dell'ossigeno con la Hb umana, in assenza ed in presenza di MetHb, sono stati determinati dall'analisi, mediante l'equazione di Hill, dei dati riportati nella fig. 1. I dati sono stati ottenuti a pH 7,4 ed alla temperatura di 37 °C, in tampone fosfato (0,6 *M*). Il parametro termodinamico $P_{50}$ indica la pressione parziale dell'ossigeno a cui l'emoproteina risulta saturata al 50% dal legante.

[b] I parametri termodinamici si riferiscono all'interazione dell'ossigeno con la Hb umana nella conformazione tipica dello stato R anche nella forma desossigenata.

cedibile ai tessuti. Pertanto, l'ipossia tessutale riscontrata nei soggetti affetti da metemoglobinemia dipende sia dalla riduzione della quota di Hb in grado di trasportare l'ossigeno, sia dalla ridotta cessione del legante a livello periferico. La Hb mostra un comportamento funzionale analogo a quello descritto in presenza di monossido di carbonio. Infatti come la MetHb, il derivato parzialmente carbonilato della Hb allo stato ferroso [HbCO] conferisce al tetramero proprietà funzionali che ricordano quelle tipiche dello stato R.

V. anche: EMOGLOBINE (V, 1393); EMOGLOBINE*; EMOGLOBINOPATIE (V, 1412); EMOGLOBINOPATIE*; METEMOGLOBINA (IX, 1035); METEMOGLOBINA*; METEMOGLOBINEMIA (IX, 1037).

**Bibliografia**

Bunn H. F., Forget B. G., *Hemoglobin: Molecular, Genetic and Clinical Aspects*, 1986, Saunders, Philadelphia.
Darling R. C., Roughton F. J. W., *Am. J. Physiol.*, 1942, 137, 56.

PAOLO ASCENZI, MASSIMO COLETTA E GINO AMICONI

**METILANFETAMINA (metanfetamina)**: V. NEUROTOSSINE*; TOSSICOMANIE*.

**METILENDIOSSIANFETAMINA (MDA)**: V. ANFETAMINA*; NEUROTOSSINE*; TOSSICOMANIE*.

**METILENDIOSSIMETILANFETAMINA (MDMA)**: V. ANFETAMINA*; NEUROTOSSINE*; TOSSICOMANIE*.

**METILFENTANILE (*China White*)**: V. TOSSICOMANIE (XV, 101).

**METILISOCIANATO**

I. *methylisocyanate.*

Il metilisocianato è un prodotto intermedio nella sintesi di un insetticida carbammico, il carbaril, che di per sé è del tutto innocuo verso gli insetti. Da un punto di vista sanitario l'interesse per il m. è esclusivamente di tipo tossicologico, essendo un potente irritante delle mucose nei mammiferi, ma non, curiosamente, negli uccelli. Una tragica conferma delle proprietà tossiche del m. è venuta dall'incidente di Bhopal. Come noto, infatti, in tale località dell'India la fuoriuscita accidentale, dall'impianto di una multinazionale, di 40 tonnellate del prodotto ha provocato la morte di duemila persone e l'intossicazione di centomila altre. I sintomi iniziali consistevano in una grave irritazione sia degli occhi che delle vie respiratorie con tosse e dispnea. La comparsa di una polmonite interstiziale è stata evidenziata in numerosi sopravvissuti all'esposizione iniziale.

RED.

**METIL-TER-BUTIL ETERE (MTBE)**

Solvente organico il cui impiego ha consentito un notevole progresso nella tecnica di dissoluzione dei calcoli biliari, mediante instillazione intracolecistica di liquidi capaci di solubilizzare il colesterolo. I primi tentativi in questo senso risalgono a cent'anni orsono e furono abbandonati perché l'etere dietilico, allora utilizzato, vaporizzando a temperatura corporea portava a intollerabili dolori addominali da distensione colecistica.

Questa tecnica è stata ripresa più sistematicamente nei tempi recenti, utilizzando il metodo ormai consolidato della cateterizzazione colecistica per via percutanea transepatica sotto controllo radiologico (la via endoscopica, solo occasionalmente utilizzata, non è realizzabile in modo sistematico per l'alta variabilità anatomo-topografica del dotto cistico) e impiegando solventi più adatti. Fra questi la monoctanoina (una miscela di esteri del glicerolo) è stata infusa in modo continuo alla velocità di 2-5 ml/h per diversi giorni (in rari casi fino a 21) ottenendo una dissoluzione totale o parziale dei calcoli nel 50% dei circa 400 casi trattati; non trascurabili sono risultati tuttavia gli effetti collaterali (dolori addominali, nausea, vomito, febbre) che talora hanno imposto la sospensione del trattamento.

Il MTBE, con punto di ebollizione ampiamente superiore alla temperatura corporea (52 °C) e con potere di dissoluzione nettamente più elevato di quello della monoctanoina, viene instillato in colecisti in quantità compresa fra i 4 e i 15 ml (in base a una preliminare valutazione della capacità colecistica mediante instillazione di un mezzo di contrasto) e successivamente riaspirato; instillazione e riaspirazione si susseguono, con periodiche sostituzioni del solvente, al ritmo di 4-6 al min per 5 h al giorno in sedute che possono ripetersi per altri due giorni. Una dissoluzione totale o comunque superiore al 95% è stata ottenuta nel 96% di una casistica di 75 pazienti (Thistle *et al.*, 1989). Il trattamento richiede, oltre all'analgesia da neurolettici per l'introduzione del catetere, il frequente impiego di analgesici e di antinausea per controllarne i più frequenti effetti collaterali. I più seri di questi effetti dipendono da un incompleto recupero del MTBE instillato: il passaggio del solvente in duodeno può esser causa di irritazioni (il cui carattere erosivo ha talora richiesto una transitoria terapia con ranitidina) e di fenomeni di sedazione generale legati agli effetti anestetici del composto assorbito in circolo. Segni di sofferenza epatica (aumento delle aminotransferasi, della bilirubinemia e della fosfatasi alcalina) accompagnano talora l'intervento ma sono modesti e transitori.

Restano da definire i risultati a lunga scadenza di questa terapia. Il decorso post-intervento (finora seguito per 6-42 mesi) dei pazienti così trattati è risultato favorevole: solo pochi dei primissimi casi hanno richiesto un successivo intervento chirurgico sulla colecisti.

È stata infine messa a punto un'apparecchiatura automatica per la simultanea instillazione e riaspirazione del MTBE a elevata velocità che assicura il pieno recupero del solvente creando, d'altra parte, fenomeni di turbolenza e che aumenta di un fattore 10 la dissoluzione dei calcoli.





Digitized by Google

**Bibliografia**
Reynolds E. F. ed., *Martindale. The Extra Pharmacopoeia*, 1989, 29 ed., The Pharmaceutical Press, London, pp. 1589 e 1591.
Thistle J. L., May G. R., Bender C. E. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1989, **320**, 633-639.
Zakko S. F., Hofmann A. F., *Gastroenterology*, 1990, **99**, 1807-1813.

RED.

**METRIZAMIDE**: v. CONTRASTO, MEZZI DI* (1843); MIELOGRAFIA (IX, 1472).

**METRONIDAZOLO** [v. vol. IX, col. 1088]

SOMMARIO



**Struttura, meccanismo e spettro d'azione**

Derivato nitroimidazolico (1-idrossi-metil-2-metil-5-nitroimidazolo; per la formula di struttura, v. METRONIDAZOLO, IX, 1088), possiede attività antibatterica ed antiprotozoaria ed è utilizzabile sia per via orale che per via parenterale. Il farmaco esplica azione antibatterica poiché viene captato dai batteri anaerobi e ridotto ad un composto responsabile dell'alterazione del DNA e della inibizione della sintesi degli acidi nucleici.

L'attività antibatterica è diretta esclusivamente nei confronti dei batteri anaerobi, sia gramnegativi (*Bacteroides fragilis*, *Bacteroides melaninogenicus*, altre specie di *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Veillonella*) che grampositivi (*Clostridium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*). Il metronidazolo possiede moderata attività antibatterica nei confronti di *Gardnerella vaginalis* e *Campylobacter fetus*, anaerobi faeoltativi. Risultano invece frequentemente resistenti *Actinomyces*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Propionibacterium*, e streptococchi microaerofili. Il m. possiede attività contro *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Balantidium coli*, e soprattutto contro *Trichomonas vaginalis*. La azione amebicida è diretta sia contro le forme intraluminali che tessutali ma il farmaco possiede scarsa efficacia nei confronti della forma cistica eliminata dai portatori asintomatici. Sono state descritte resistenze al m. da parte di *Trichomonas vaginalis*, *Bacteroides fragilis* ed altri anaerobi, specie dopo terapia prolungata.

**Biodisponibilità e farmacocinetica**

Dopo somministrazione orale viene assorbito per l'80% e raggiunge i livelli di picco plasmatico entro 1-3 ore. Il cibo ne rallenta l'assorbimento e ne riduce i picchi plasmatici. La somministrazione di 500 mg per via parenterale garantisce livelli di picco doppi rispetto alla via orale (26 *vs.* 13 mg/l). Legato alle proteine plasmatiche per il 20% si distribuisce con facilità nei tessuti (incluso quello osseo), bile, saliva, liquido pleurico e peritoneale, secrezione vaginale, liquido seminale, ascessi epatici e cerebrali. Nel liquor raggiunge concentrazioni pari al 43% di quelle plasmatiche a meningi integre e uguali o superiori a quelle plasmatiche a meningi infiammate. Supera la barriera placentare e si ritrova nel latte materno.

Il m. ha una vita media plasmatica di 6-8 ore, che viene prolungata in caso di insufficienza epatica. Il 30-60% del farmaco viene metabolizzato a livello epatico a composti che possiedono una qualche attività antibatterica ed antiprotozoaria. Viene eliminato prevalentemente per via renale (77%) ed in minor misura con le feci (14%).

**Indicazioni cliniche**

— Tricomoniasi: maschi e femmine con infezioni sintomatiche o asintomatiche; trattamento dei contatti sessuali.
— Amebiasi: infezione intestinale acuta ed ascesso epatico da *Entamoeba histolytica*, *Dientamoeba fragilis* (nei bambini) ed *E. polecki*.
— Giardiasi acuta o asintomatica.
— Infezioni da anaerobi: infezioni addominali, ginecologiche, cutanee, osteoarticolari, polmonari, cerebrali, sepsi, endocarditi da germi sensibili.
— Profilassi perioperatoria in chirurgia colorettale, ginecologica e nella appendicectomia.
— Vaginiti da *Gardnerella vaginalis*.
— Dracunculiasi (ulcera cronica cutanea da *Dracunculus medinensis*, nematode tessutale).
— Balantidiasi (infezione intestinale causata dal protozoo *Balantidium coli*).
— *Blastocystis hominis* (protozoo anaerobio che causa enterite).
— Malattia di Crohn; colite pseudomembranosa.
— Acne rosacea.

*Controindicazioni*. – Ipersensibilità al farmaco; gravidanza (1 trimestre); allattamento.

**Modalità di somministrazione e dosi usuali**

*Tricomoniasi*: via orale; 2 g in dose singola oppure 250 mg 3 volte al dì per 7 giorni.

*Amebiasi*: via orale; nell'infezione intestinale acuta: 750 mg 3 volte al dì per 5-10 giorni (in associazione con iodochinolo o diloxanide furoato); nell'ascesso epatico: 500-750 mg 3 volte al dì per 5-10 giorni; nell'amebiasi da *Dientamoeba fragilis* nei bambini: 250 mg 3 volte al dì per 7 giorni; nelle infezioni da *E. polecki*: 750 mg 3 volte al dì per 10 giorni (seguito da diloxanide furoato).

*Giardiasi*: via orale; 250 mg 3 volte al dì per 5-7 giorni o 2 g per 3 giorni.

*Infezioni da anaerobi*: via endovenosa; dose da carico: 15 mg/kg seguita da 7,5 mg/kg ogni 6 h, infusi in 1 h. Passare alla via orale appena possibile; durata terapia: 2-3 settimane.

*Profilassi perioperatoria*: via endovenosa; 500 mg-1 g 1 h prima e 500 mg 8 e 16 h dopo l'intervento.

*Vaginiti da Gardnerella vaginalis*: via orale; 500 mg 2 volte al dì per 7 giorni o 2 g in dose unica.

*Dracunculiasi*: via orale; 250 mg 3 volte al dì per 10 giorni.

*Balantidiasi e Blastocystis hominis*: via orale; 750 mg 3 volte al dì per 5-10 giorni.

*Malattia di Crohn*: via orale; 400 mg 2 volte al dì; se malattia perianale refrattaria 1-1,5 g al dì in 3-5 dosi divise, per via orale.

*Colite pseudomembranosa*: via orale; 750 mg-2 g al dì in 3-4 dosi divise per 7-14 giorni.

*Acne rosacea*: via topiea (gel allo 0,75% o crema all'1%) 1-2 applicazioni al dì.

**Effetti indesiderati**

Apparato gastroenterico: nausea, cefalea, anoressia, bocca secca, sapore metallico; occasionalmente vomito, diarrea; raramente colite pseudomembranosa e pancreatite.

S.N.C.: neuropatia periferica reversibile, atassia, convulsioni.

Altri effetti indesiderati: leucopenia transitoria, bruciore uretrale, disuria, reazioni di ipersensibilità.





Digitized by Google

**Interazioni d'importanza clinica**

Potenzia gli effetti degli anticoagulanti orali; se assunto contemporaneamente all'alcol può provocare effetti antabuse-simili; se assunto contemporaneamente al disulfiram può indurre una psicosi acuta; se utilizzato con il litio ne aumenta i livelli ematici; l'uso concomitante di fenobarbital ne provoca la diminuzione dei livelli ematici.

**Bibliografia**

Anonimo, *Metronidazole, American Hospital Formulary Service*, *89*, 1989, Am. Soc. Hospital Pharmacist Publ., Bethesda, p. 439.

FRANCESCO MENICHETTI

**MEVINOLINA (lovastatina)**: v. IPOCOLESTEROLEMICI FARMACI* (col. 4059).

**MIASTENIA** [v. vol. IX, col. 1106]

SOMMARIO



**Introduzione e sviluppo storico**

La miastenia, o meglio *miastenia grave*, è una malattia che produce un grado variabile di debolezza della muscolatura volontaria, con tendenza al recupero della forza muscolare dopo un periodo di riposo, ma anche al peggioramento dopo uno sforzo o una stimolazione elettrica ripetuti.

Una discussione approfondita relativa all'immunopatologia della m. e alla comprensione dei normali meccanismi di neurotrasmissione esula dallo scopo di questo articolo. Ultimamente la letteratura sulla caratterizzazione, sulla purificazione dei recettori nicotinici dell'acetilcolina e sulla giunzione neuromuscolare dei vertebrati si è molto ampliata. Le caratteristiche generali e quelle immunologiche del modello sperimentale della m. autoimmune e della m. che si riscontra in natura in animali come cani e gatti non possono essere descritte in questa sede, così come la trattazione della tecnica recente di misurazione degli anticorpi per i recettori dell'acetilcolina e della situazione degli studi — tanti e spesso fra loro contrastanti — sulle anomalie immunitarie che accompagnano la m. L'affezione è stata oggetto di studi intensi in questi ultimi anni e ciò ha permesso di accumulare un enorme patrimonio di conoscenze, non solo a livello immunitario, su quanto accade nella giunzione neuromuscolare sia in salute che in malattia, ma anche rispetto a numerosi altri aspetti delle affezioni autoimmuni in generale.

Sembra che la m. sia stata descritta per la prima volta dal dottor Thomas Willis, un membro della Royal Society, di Christchurch, Oxford (Willis, 1672). La seconda descrizione datane in Inghilterra è quella del 1877 di Sir Samuel Wilks, autore di una relazione dal titolo «*On Cerebritis Hysteria and Bulbar Paralysis, as illustrative of the onset of function of the cerebro-spinal centres*» (Wilks, 1877). Ma è stato Erb, che ancora riteneva la malattia esclusivamente neurologica e la lesione interna al S.N.C., e «che dominava incontrastato nella neurologia tedesca» a dare il suo nome insieme a quello di un altro neurologo tedesco alla sindrome, conosciuta allora come *malattia di Erb-Goldflam-Oppenheim*. Jolly (1895) fece l'importante osservazione che esercitare un certo gruppo muscolare può indebolire un altro gruppo di muscoli, fenomeno conosciuto come «effetto Walker» per via della descrizione fattane nel 1938 dalla dottoressa Mary Walker (Walker, 1938). Jolly esaminò la reazione dei muscoli alla stimolazione elettrica e dimostrò la diminuzione delle risposte determinata dalla stimolazione tetanica indiretta. Pur prendendo in considerazione il danno muscolare, Jolly si convinse che la lesione principale fosse cerebrale e che dipendesse dall'effetto di una neurotossina. Fu lui ad introdurre la definizione *myasthenia gravis pseudoparalitica* e, a un congresso della società berlinese di psichiatria e neurologia, tenutosi nel 1899, fu deciso di mantenere semplicemente la definizione di m. grave. Altre descrizioni importanti della malattia furono date da Campbell e Bramwell nel 1900 ed è vero che nessuno degli studi clinici successivi ha mai raggiunto il livello di completezza e profondità di questi due autori.

Fu verso la metà degli anni Trenta che l'attenzione si spostò al muscolo come luogo della lesione responsabile della m. Sir Henry Dale (1936) dimostrò che nella giunzione neuromuscolare veniva liberata acetilcolina e che questa era distrutta dall'enzima colinesterasi, osservazione che ebbe molta importanza per gli studi condotti poi da Mary Walker. La Walker dimostrò cha la fisostigmina, inibitore della colinesterasi, alleviava la debolezza prodotta dalla m. (Walker, 1934). Gordon Holmes nel frattempo aveva scoperto i tumori del timo o comunque la presenza di anomalie timiche in 6 degli 8 casi che aveva osservato *post mortem* (Holmes, 1923). Norris, che aveva scritto sulla linforragia muscolare, affermò che «si possono trovare modificazioni patologiche del timo nei casi di m. grave, e che la loro rilevazione dipende dall'accuratezza della ricerca» (Norris, 1936).

La prima operazione fu praticata nel 1911 a Zurigo da Ferdinand Sauerbruch su una donna di 20 anni con malattia di Graves e m. (Schumacher e Roth, 1912), mentre la prima asportazione di un tumore del timo associato a m. risale al 1939, ad opera di Blalock. La paziente, una donna di 20 anni, ebbe una totale remissione dei sintomi e, in pratica, è a partire da quegli anni che si è cominciato a trattare la malattia anche chirurgicamente (Blalock *et al.*, 1939).

Smithers fu il primo a suggerire che la m. potesse essere una malattia autoimmune dopo aver osservato le analogie istologiche fra il timo nella m. e la tiroide nei pazienti affetti da tiroidite (Smithers, 1959). Simpson descrisse un gran numero di casi di m. sottolineando la sempre maggiore associazione con altre malattie ritenute autoimmuni (Simpson, 1960).

La discussione circa la sede, presinaptica o postsinaptica, della lesione è proseguita per anni. L'attenzione si è concentrata sul recettore dell'acetilcolina nella membrana postsinaptica grazie alla scoperta che il numero di quei recettori appariva ridotto (Fambrough *et al.*, 1973). Che il recettore dell'acetilcolina (AChR) fosse effettivamente il bersaglio di un attacco autoimmune nella m. è stato dimostrato dall'esperimento, ormai classico, di Patrick e Lindstrom (1973) che dopo aver immunizzato i conigli con la proteina purificata del recettore per l'acetilcolina, avevano osservato negli animali sintomi gravi, simili a quelli della m., un quadro questo definibile come *myasthenia gravis autoimmune sperimentale* (EAMG). L'identificazione dell'autoantigene nella m., oltre alle dimostrazioni ottenute sul modello animale, ha suscitato un grande concorso di interesse medico-scientifico che ha portato all'esplosione dell'attività di ricerca in questo campo, ricerca a tuttoggi molto intensa.

**Genetica**

La componente genetica delle malattie autoimmuni è nota da tempo. Nel caso della m. i casi familiari sono stati segnalati fin dal 1900, quando Oppenheim dichiarò: «Una volta ho riscontrato la malattia in una donna la cui sorella era già morta della stessa cosa». L'argomento è stato riconsiderato più volte e, in particolare, lo studio dei gemelli offre un osservatorio unico per la valutazione del ruolo dei fattori genetici e ambientali in qualunque malattia.

È stata dimostrata con certezza l'associazione di HLA-B8 e di m., mentre non è stata identificata una correlazione fra la presenza di HLA-B8 e il titolo degli anticorpi anti-AChR. È stato calcolato che le donne con meno di 35 anni che presentano l'antigene HLA-B8 hanno un rischio relativo 12,7 volte più alto di sviluppare la m. Dopo i 35 anni la presenza di HLA-B8 comporta un rischio 2,6 volte più alto. D'altra parte, i maschi con HLA-B8 al di sotto dei 35 anni presentano un rischio 5,1 volte maggiore rispetto a quelli



Digitized by Google

del gruppo di controllo, mentre al di sopra dei 35 anni il rischio scende a 0,9 (Dawkins, 1978). La maggiore incidenza dell'antigene HLA-B8 nella m. si può riscontrare nel caso delle popolazioni caucasiche, ma non in tutte le razze. È stata trovata un'associazione significativa di HLA-B12 nelle giovani donne giapponesi con esordio precoce della malattia e con iperplasia timica e di HLA-B5 nei pazienti con timoma (Yoshida *et al.*, 1977). Nei bambini cinesi è stato segnalato l'incremento significativo di HLA-Bw46 (Hawkins *et al.*, 1984). Nei negri americani, invece, è stata ipotizzata un'associazione di m. e di HLA-A1 e/o -B8 con un aumento di -DR5, piuttosto che di -DR3 (Christiansen *et al.*, 1984). L'associazione di Gm (*marker* delle catene pesanti delle IgG) si verifica nei giapponesi affetti da m. (Nakao *et al.*, 1977) nei quali esiste una correlazione positiva tra timoma e concentrazioni di Gm1, 2, 21. Tale associazione non è stata riscontrata però in pazienti di altre razze.

**Malattie associate**

A partire dalla pubblicazione del lavoro di Simpson, nel 1960, in cui veniva proposta la teoria di una patogenesi autoimmune della m. molti altri studi hanno confermato quell'ipotesi originale, confortata dall'osservazione clinica di casi in cui la m. si trova associata ad altre malattie a probabile etiologia autoimmune.

**Ricerche cliniche**

L'anamnesi e i risultati dell'esame clinico sono elementi sufficienti per porre la diagnosi nella gran parte dei casi. Il test con edrofonio (Tensilon®) è semplice da eseguire e può essere utile per arrivare alla diagnosi. Le radiografie del torace, in proiezione anteroposteriore e laterale, possono evidenziare un timoma, risultati che ovviamente si possono ottenere anche con la stratigrafia e con la tomografia computerizzata (TC) del torace.

Elemento importante, e in qualche modo caratterizzante per la diagnosi, è una maggiore concentrazione di anticorpi anti-AChR. È raro trovare falsi positivi e, d'altra parte, non sempre in caso di m. è presente un titolo anticorpale molto elevato; le valutazioni variano grandemente da un ricercatore all'altro e da un'analisi all'altra, ma per lo più si ritiene che risultati intorno all'80% siano assumibili come validi nella maggior parte delle analisi. L'elettromiografia è considerata utile poiché una diminuzione dei potenziali maggiore del 10% viene ritenuta indicativa di m. nella prima e sesta risposta. Di solito si usa una stimolazione sovramassimale del nervo mediano o ulnare, registrando il potenziale di azione sugli elettrodi a superficie larga applicati sull'abduttore breve del pollice o sull'abduttore del mignolo, mentre la mano viene tenuta immobile per mantenere la contrazione muscolare isometrica e ridurre ogni movimento artificiale. Ozdemir e Young (1976) hanno trovato che, mentre il 59% dei pazienti con m. nota presentava risposte anormali alla stimolazione del nervo mediano registrando dall'abduttore breve del pollice, il 95% dei casi esaminati risultava positivo quando si analizzavano anche le risposte di altri gruppi muscolari, come per es. il deltoide, l'orbicolare dell'occhio e i flessori del polso. La sensibilità diagnostica raggiungeva il 100% nei casi più gravi, negli studi di Oh *et al.* (1982). Bisogna però tenere presente il fatto che i pazienti con m. lieve, e a volte anche quelli con forme gravi, possono presentare risposte normali.

Un test elettrofisiologico che può essere d'aiuto nella diagnosi della m. è l'*elettromiografia a singola fibra*, tecnica messa a punto da Stalberg e Trontelj (1979) e che registra il fenomeno del *jitter*, un aumento della variabilità degli intervalli tra i potenziali. Il test comunque non è specifico poiché è stato rilevato un certo numero di anomalie anche in molte altre malattie; invece, considerato con i risultati dei test precedenti, si può rivelare molto utile. In passato è stata descritta una grande varietà di altri test, come per es. quelli acustici, quelli dei riflessi oculari e quelli al curaro, locali o generalizzati; si tratta però di test oggi non più usati nella normale pratica clinica.

**Varianti della malattia e sindromi miasteniche**

*Miastenia neonatale*

Questa malattia si presenta solo nei neonati figli di madri affette da m. In genere si protrae dalle 2 alle 6 settimane dopo la nascita e poi scompare. Circa 1 su 7 madri affette da m. dà alla luce figli con m. neonatale. Si tratta di una forma leggera e che tende a regredire, ma può anche presentarsi con una gravità tale da richiedere l'immediata plasmaferesi, la quale può essere indicata nei casi in cui i movimenti fetali siano ridotti e la concentrazione di anticorpi anti-AChR elevata (Barlow, 1981). Poiché non esiste correlazione fra la m. neonatale e il titolo degli anticorpi anti-AChR nella madre si ritiene che il passaggio transplacentare di anticorpi anti-AChR sia alla base della patogenesi della malattia nei bambini.

*Miastenia congenita*

È stata così definita la m. che si sviluppa prima dei 2 anni (Bundey, 1972). Nella maggior parte dei casi però, ad un esame più attento, è stata notata la presenza dei sintomi fin dalla nascita, così come una riduzione dei movimenti fetali (Levin, 1949). Dal punto di vista clinico sono presenti coinvolgimento bilaterale della muscolatura oculare con debolezza di varia entità della muscolatura degli arti, facciale, oculare e del tronco. Con il tempo i sintomi non si aggravano particolarmente e la risposta alla terapia con esterasi dell'acetilcolina varia da caso a caso. Questi pazienti non hanno anticorpi per i recettori dell'acetilcolina (Vincent e Newsom-Davis, 1979).

Di recente sono state descritte sindromi miasteniche comparse durante l'infanzia, congenite o comunque in presenza di familiarità e a patogenesi non immune. Si tratta di casi molto rari, ma che sono stati oggetto di studio perché proprio la comprensione di quel difetto ha permesso di capire il meccanismo di base della malattia a livello neuromuscolare. Engel *et al.* (1977; 1981a) hanno descritto una malattia miastenica congenita associata a carenza dell'acetilcolinesterasi della placca motrice.

In un'altra forma di m. era implicato invece un *difetto dei canali ionici* associati all'acetilcolina (Engel *et al.*, 1979a; 1979b; 1981a). Quest'ultima forma (o *sindrome del canale lento*) sembrerebbe ereditata come malattia autosomica dominante e dal punto di vista clinico è caratterizzata da diversi livelli di oftalmoplegia presente fin dalla nascita, associata a facile affaticamento, debolezza e deterioramento della muscolatura scapolo-omerale.

È stato riferito anche un terzo tipo di sindrome miastenica familiare in cui potrebbe essere implicato un difetto della risintesi o mobilizzazione dell'ACh (Hart *et al.*, 1979; Engel *et al.*, 1981a).

*Miastenia giovanile*

In passato si è fatta confusione fra la forma congenita e quella giovanile di m. e alcuni ricercatori non facevano distinzione fra le due sindromi. Abbiamo appena elencato le caratteristiche della m. congenita. Si tratta di caratteristiche che la differenziano in maniera netta dalla m. giova-





Digitized by Google

nile che è in tutto e per tutto uguale alla forma di m. acquisita degli adulti. Il problema di distinguere la m. giovanile da quella congenita si pone solo nel caso in cui la sindrome compaia nei primi due anni di vita.

Bucknall nel 1977 ha scoperto e descritto una forma reversibile di m. manifestatasi in pazienti colpiti da artrite reumatoide e curati con penicillamina per un periodo variabile dai 4 mesi ai 5 anni. Tutti i pazienti tranne uno avevano assunto più di 500 mg di farmaco al giorno. Tutti avevano anticorpi anti-AChR e iperplasia timica (Masters *et al.*, 1977) e in alcuni casi rispondevano alla timectomia.

La malattia causata dai farmaci si distingue dall'altra perché se la terapia viene interrotta il titolo anticorpale tende a cadere.

*Sindrome miastenica di Eaton-Lambert*

Questa forma di m. si distingue facilmente da quella convenzionale grazie a dati clinici, elettrofisiologici e immunologici. Per lo più sono colpiti i muscoli delle spalle, delle braccia, quelli pelvici e della parte prossimale degli arti inferiori, mentre sono risparmiati quelli del bulbo oculare e quelli respiratori. Questi ultimi, però, possono essere colpiti e si può avere un interessamento del sistema nervoso autonomo (Rubinstein *et al.*, 1979) con impotenza, costipazione e disturbi della minzione.

La maggior parte dei ricercatori ha sottolineato la significativa associazione di questa sindrome con il carcinoma bronchiale e soprattutto con il microcitoma polmonare. Fra le altre forme tumorali segnalate ci sono il linfosarcoma e il carcinoma epidermoide, il carcinoma renale e il timoma. La sindrome però può presentarsi anche in assenza di forme tumorali o precederne di anche un anno la comparsa. Alcuni casi si presentano abbinati a malattie autoimmuni, per es. a ipotiroidismo, all'anemia perniciosa, al morbo celiaco e alla vitiligine (Gutmann *et al.*, 1972; Mori e Takamori, 1976; Lang *et al.*, 1981).

Nei pazienti che presentano questa sindrome inizialmente i movimenti muscolari appaiono rallentati, ma, al contrario di quanto succede in caso di m., la ripetizione li rafforza. Questo fenomeno paradossale è evidente all'elettromiografia: con la stimolazione ripetitiva a 20-30 Hz, i potenziali d'azione lenti aumentano di ampiezza e arrivano quasi ai livelli normali (risposta incrementale).

La sindrome di Eaton-Lambert è una malattia presinaptica e non vi si riscontrano gli anticorpi anti-AChR. Sono state segnalate risposte positive alla terapia immunosoppressiva (Vroom e Engel, 1969; Newson-Davis, 1982; 1984). Studi sperimentali hanno dimostrato che le caratteristiche elettrofisiologiche tipiche possono essere trasferite dai pazienti affetti ai topi attraverso il siero (Lang *et al.*, 1981; Newson-Davis, 1982; 1984). Fukunaga *et al.* (1983) hanno dimostrato che il trasferimento passivo di IgG dai pazienti ai topi produceva la deplezione selettiva delle zone attive e delle particelle delle zone attive. I topi malati presentavano anomalie dal punto di vista elettrofisiologico. Di recente è stato dimostrato che nella sindrome miastenica di Eaton-Lambert c'è un autoanticorpo per i determinanti del canale del calcio del tumore e la sua reattività crociata con determinanti simili sui terminali nervosi motori porta a pensare a sindromi neurologiche remote (Roberts *et al.*, 1985).

Per più ampi particolari, v. MIASTENICHE SINDROMI*.

**Terapia**

La terapia della m. varia da paziente a paziente. Alcuni non necessitano di alcun trattamento, mentre altri sembrano rispondere male a qualunque terapia. I primi farmaci di elezione sono quelli anticolinesterasici e quelli più comunemente usati sono il bromuro di neostigmina e il bromuro di piridostigmina. La terapia potrebbe iniziare con una sola dose di piridostigmina (60 mg) e si potrebbe passare alla somministrazione della seconda dose quando gli effetti della prima cominciano ad attenuarsi. I pazienti si renderanno conto ben presto se sono necessarie una o due pasticche ogni 4 ore e capiranno da soli quando è il caso di ridurre o di aumentare il dosaggio. Tutte le altre terapie offrono vantaggi irrilevanti rispetto a quella con piridostigmina, la sola differenza è che la neostigmina, per es., ha un'azione più immediata e più breve. La nostra terapia standard adottata dopo la conferma della diagnosi consiste nella timectomia, praticata in tutti i pazienti, indipendentemente dal tipo di m. che presentano, per es. oculare o generalizzata. Prima dell'operazione viene fatta la plasmaferesi che provvederà a proteggere il paziente da qualunque peggioramento postoperatorio. Dopo la timectomia il paziente, se necessario, viene curato con piridostigmina per via orale, poi si passa alla somministrazione di cortisonici e azatioprina. Il dosaggio dei cortisonici varia dai 60 ai 120 mg/*die* di prednisolone per tre settimane, passa poi lentamente a 40 mg/*die* per tutto il mese successivo, viene ridotto a 20 mg/*die*, dopodiché nel giro di tre mesi si può cautamente interrompere la terapia. Insieme ai cortisonici viene somministrata azatioprina, 150 mg distribuiti durante la giornata, proseguendo la terapia per un anno e, se i sintomi si ripresentano, continuandola per un altro anno.

Con questa terapia siamo riusciti a curare la grande maggioranza dei nostri casi di m. e solo in qualche caso abbiamo osservato una risorgenza episodica dei sintomi collegata per lo più a un'infezione virale. La sola plasmaferesi può alleviare i sintomi della m., ma non ha un effetto curativo a lungo termine (Behan *et al.*, 1979); ha comunque un ruolo importante nella terapia adiuvante e in particolare nel preparare il paziente all'intervento, nelle crisi miasteniche gravi e nelle rare crisi colinergiche. Il suo ruolo in terapia è stato messo in discussione, come del resto quello di altre sostanze fra cui le globuline antilinfocitiche, le gammaglobuline e la timectomia (Harrison e Behan, 1986).

Un approccio razionale al trattamento di quasi tutte le forme di m. potrebbe essere il seguente: nei casi di gravità scarsa o moderata il trattamento medico consiste nella somministrazione di farmaci anticolinesterasici; la piridostigmina è il farmaco d'elezione e il dosaggio iniziale è di 60 mg, la seconda pasticca va presa alla ricomparsa della debolezza. In questo modo si può arrivare a stabilire il dosaggio ideale. Presto infatti si arriva a identificare il dosaggio che produce il massimo beneficio il quale non coincide necessariamente con il ritorno alla normale forza muscolare; quest'ultimo dato è importante perché a volte, nel tentativo di ritornare alla normalità muscolare, vengono aumentate le dosi di anticolinesterasici che, al contrario, finiscono per produrre debolezza o addirittura crisi colinergiche. La muscolatura da tenere sotto stretto controllo è quella respiratoria e quella oculare. Va ancora attentamente verificata l'ipotesi che i risultati possano essere valutati sulla scorta della somministrazione endovenosa di edrofonio. L'uso continuato di atropina non riduce gli effetti collaterali.

Nei pazienti che non rispondono alla terapia con i farmaci anticolinesterasici, o che vi rispondono solo parzialmente, si può tentare di somministrare cortisonici, che possono essere usati insieme agli anticolinesterasici; è comunque consigliabile ricoverare il paziente fino a che la terapia non è stata messa a punto. Una possibile dose di inizio è quella di 25 mg/*die* di prednisone; in questo caso la terapia richiederà dalle 2 alle 6 settimane per fare effetto. Bisogna controllare attentamente il miglioramento indotto dalla te-



Digitized by Google

rapia perché questo può avvenire in modo così marcato da rendere la dose di anticolinesterasici capace di scatenare crisi colinergiche. Se anche i cortisonici dovessero rivelarsi inefficaci, il farmaco di elezione è allora l'azatioprina al dosaggio quotidiano di 2,5 mg/kg.

La plasmaferesi si può praticare in caso di malattia grave, recidive, crisi colinergica, o preparazione del paziente alla timectomia; inoltre può rivelarsi particolarmente efficace se viene praticata all'inizio di una terapia immunosoppressiva.

Secondo il parere di chi scrive la timectomia è efficace nella maggior parte dei pazienti affetti da m. I rischi connessi con le moderne tecniche chirurgiche sono bassi, mentre la maggiore incidenza di cancro in questi pazienti suggerirebbe la timectomia in tutti i casi di m. L'ipotesi di praticare la timectomia andrebbe fatta subito dopo la diagnosi e, una volta deciso in tal senso, l'intervento andrebbe praticato appena possibile. La percentuale di remissioni della malattia è alta, anche se può passare circa un anno dopo l'operazione prima che il paziente registri la scomparsa dei sintomi.

Non sono raccomandabili invece altre forme di terapia, come per es. quelle con la globulina antitimociti, o il drenaggio del dotto toracico. Infine l'irradiazione completa del corpo andrebbe riservata solo ai casi refrattari a tutte le altre terapie.

**Bibliografia**


Aarli J. A., Stefansson K., Marton L. S. G., Wollmann R. L., *Clin. Exp. Immunol.*, 1990, **82**, 284-288.
Allen N., Kissel P., Pietrasiuk D., Perlow M. J., *Arch. Neurol. (Chicago)*, 1984, **41**, 994.
Barlow C. F., *Am. J. Dis. Child.*, 1981, **135**, 209.
Behan P. O., Simpson J. A., Dick H. M., *Lancet*, 1973, **2**, 1033; 1220.
Behan P. O., Shakir R. A., Simpson J. A. *et al.*, *Lancet*, 1979, **2**, 438-440.
Behan P. O., *J. Neurol. Neurosurg. Psych.*, 1980, **43**, 611-621.
Behan W. M., Behan P. O., Doyle D., *Acta Neuropathol.*, 1982, **57**, 221-229.
Blalock A., Mason M. F., Morgan H. J., Riven S. S., *Ann. Surg.*, 1939, **110**, 544-561.
Bucknal R. C., *Proc. R. Soc.*, 1977, **70**, 114-117.
Bundey S., *J. Neurol. Neurosurg. Psych.*, 1972, **35**, 41-51.
Campbell H., Bramwell E., *Brain*, 1900, **23**, 277-336.
Christiansen F. T., Pollock M. S., Garlepp M. J., Dawkins R. L., *J. Neuroimmunol.*, 1984, **7**, 121-129.
Dale H. H., *Harvey Lect.*, 1936, **32**, 229-245.
Dawkins R. L., *Myasthenia Gravis*, in Bodmer W. F. *et al.* eds., *Testing 1977, Histocompatibility*, 1978, Munksgaard, Copenhagen, pp. 224-227.
Engel A. G., Lambert E. H., Gomez M. R., *Ann. Neurol.*, 1977, **1**, 315-330.
Engel A. G., Lambert E. H., Mulder D. M. *et al.*, Ann. *Neurol.*, 1979a, **6**, 146.
Engel A. G., Lambert E. H., Mulder D. M. *et al.*, *Trans. Am. Neurol.*, 1979b, **104**, 8.
Engel A. G., Lambert E. G. H., Mulder D. M. *et al.*, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1981a, **377**, 614-637.
Engel A. G., Sahashi K., Fumagalli G., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1981b, **377**, 158-174.
Fanbrough D. M., Drachman D. B., Satyamurti S., *Science*, 1987, **182**, 293.
Fukunaga H., Engel A. G., Lang B. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1983, **80**, 7636-7640.
Gutmann L., Crosby T. W., Takamori M., Martin J. D., *Am. J. Med.*, 1972, **53**, 354.
Harrison R., Behan P. O., *Myasthenia Gravis*, in Bachelard H. S., Lunt G. G., Marsden C. D. eds., *Clinical Neurochemistry*, Vol. 1, 1986, Academic Press, London.
Hart Z. H., Sahashi K., Lambert E. H., Engel A. G., *Neurology*, 1979, **29**, 556.
Hawkins B. R., Chan-Lui W. Y., Chor E., Ho A. Y., *J. Neurol. Neurosurg. Psych.*, 1984, **47**, 555.
Holmes G., *Brain*, 1923, **46**, 239.
Jolly F., *Berl. Klin. Wochenschr.*, 1985, **32**. 1-7.
Lang B., Newsom-Davis J., Wray D. *et al.*, *Lancet*, 1981, **2**, 224-226.
Levin P. M., *Arch. Neurol. Psych.*, 1949, **62**, 745-758.
Masters C. L., Dawkins R. L., Zilko P. J. *et al.*, *Am. J. Med.*, 1977, **69**, 689-694.
Mori M., Takamori M., *Neurology*, 1976, **26**, 882-887.
Nakao K., Nishitani H., Suzuke M. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1977, **297**, 169.
Newson-Davis J. M., *Clin. Immunol. Allergy*, 1982, **2**, 405-424.
Newson-Davis J., *Immune mechanisms in myastenia gravis and in the Lambert-Eaton myasthenic syndrome*, in *Neuromuscular Diseases*, Serratrice G., Cros D., Desnuelle C., Gastaut J.-L., Pellisier J.-F., Pouget J., Schiano A. eds., 1984, Raven, New York, pp. 491-494.
Norris E. H., *Am. J. Cancer*, 1936, **27**, 421-433.
Oh S. J., Eslami N., Nishihara T. *et al.*, *Ann. Neurol.*, 1982, **12**, 348-354.
Ozdemir C., Young R. R., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1976, **274**, 203-222.
Patrick J., Lindstrom J., *Science*, 1973, **180**, 871-872.
Roberts A., Perera S., Lang B. *et al.*, *Nature*, 1985, **317**, 737-739.
Rubinstein A. E., Horowitz S. H., Bender A. N., *Neurology*, 1979, **29**, 720-723.
Schummacher E. D., Roth M., *Mitt. Grenzgeb. Med. Chir.*, 1912, **25**, 746-765.
Simpson J. A., *Scot. Med. J.*, 1960, **5**, 419-436.
Simpson J. A., *Current concepts and history of the autoimmune nature of myasthenia*, in Albuquerque E. X., Elderfrawi A. T. eds., *Myasthenia Gravis*, 1983, Chapman & Hall, London, pp. 3-41.
Smithers D. W., *J. Radiol.*, 1959, **10**, 3-16.
Stalberg E., Trontelj J. V., *Single Fibre Electromyography*, 1979, Mirvalle Press, Old Woking, Surrey, England.
Vincent A., Newsom-Davis J., *Adv. Cytopharmacol.*, 1979, **3**, 259-278.
Vroom F. O., Engel W. K., *Neurology*, 1969, **19**, 281.
Walker M. B., *Lancet*, 1934, **1**, 1200-1201.
Walker M. B., *Proc. R. Soc. Med.*, 1938, **31**, 722.
Wilks S., *Guy's Hosp. Rep.*, 1887, **22**, 7-55.
Willis T., *De Anima Brutorum*, 1672, Oxford.
Yoshida T., Tsuchiya M., Ono A. *et al.*, *J. Neurol. Sci.*, 1977, **32**, 195-201.


PETER O. BEHAN

## MIASTENICHE SINDROMI

F. *syndromes myasthénique*. - I. *myasthenic syndromes*. - T. *Myasthenischesyndrome*. - S. *sindrome myasthénicas*.

SOMMARIO



### Introduzione

Sono definite sindromi miasteniche alcune condizioni cliniche, diverse dalla *myasthenia gravis* con la quale condividono la caratteristica di provocare un'affaticabilità muscolare abnorme a causa di alterazioni della trasmissione chimica nella giunzione neuromuscolare.

Nella *myasthenia gravis* il disturbo della trasmissione neuromuscolare è a livello postsinaptico e consiste nella riduzione dei recettori per l'acetilcolina (ACh). Nelle s. m., al contrario, l'alterazione è a livello presinaptico nella maggior parte dei casi e consiste, in particolare, nella diminuzione dei quanti di neurotrasmettitore liberati all'arrivo dell'impulso nervoso.

Le s. m. conosciute meglio sono la s. m. di Eaton-Lambert, quelle indotte da farmaci, da sostanze tossiche e tossine e, infine, le s. m. congenite.

### Sindrome miastenica di Eaton-Lambert

Descritta per la prima volta nel 1953, in un paziente con cancro del polmone e considerata per anni, in ogni caso, una sindrome paraneoplastica, si è visto in seguito che la sindrome di Eaton-Lambert non è associata sempre a un tumore. In una rassegna recente di 50 casi (O'Neill *et al.*, 1988), la malattia era associata a un tumore, in particolare al microcitoma polmonare, in circa il 50% dei casi, mentre





Digitized by Google

negli altri non era stato possibile diagnosticare alcuna neoplasia dopo un intervallo di 5 anni; altre indagini hanno fornito risultati simili. La sindrome si verifica in circa l'1% dei carcinomi polmonari considerati nel loro insieme. Le probabilità d'identificare la neoplasia sono massime nel primo biennio, diminuiscono drasticamente dopo 2 anni e diventano molto basse dopo 4 anni dall'esordio dei sintomi. In ogni caso, dato che la sindrome può precedere la diagnosi del tumore anche di anni, una volta identificato il disturbo neurologico occorre cercare la neoplasia con estrema attenzione.

Per la diagnosi di sindrome di Eaton-Lambert è fondamentale lo studio elettrofisiologico che presenta tre alterazioni caratteristiche: 1) diminuzione dell'ampiezza del potenziale d'azione muscolare evocato da una stimolazione nervosa singola, 2) progressiva diminuzione dell'ampiezza della risposta in caso di una stimolazione ripetitiva a bassa frequenza (1-3/sec), 3) aumento dell'ampiezza da 2 a 20 volte (facilitazione) per stimolazione a frequenza rapida (30/sec).

Questo andamento è dovuto al ridotto numero di quanti di ACh liberati dalla terminazione nervosa al passaggio dell'impulso nervoso. Che le riserve di ACh nelle vescicole sinaptiche siano normali e così pure la risposta postsinaptica ai quanti di ACh è dimostrato dal miglioramento temporaneo che si osserva con la stimolazione a frequenza rapida, manovra che facilita la liberazione di un maggior numero di quanti di ACh.

Analogamente, il gliconato di calcio e la guanidina migliorano la sintomatologia perché attivano la liberazione di ACh. Il corrispettivo sul piano clinico è che nel caso di uno sforzo volontario massimale, la forza di un muscolo debole aumenta per alcuni secondi, poi diminuisce. La ridotta liberazione di quanti di ACh viene attribuita a un ingresso ridotto di ioni calcio nella terminazione nervosa.

Le indagini ultrastrutturali hanno dimostrato che nella sindrome di Eaton-Lambert si verifica una riduzione e disorganizzazione delle cosiddette zone attive della membrana presinaptica, in particolare nelle parti che si pensa corrispondano ai canali del $Ca^{2+}$ voltaggio-dipendenti. Questa riduzione, di circa il 40%, è causata da un meccanismo autoimmune. Diverse indagini sperimentali hanno dimostrato la presenza di anticorpi capaci di legarsi con i determinanti antigenici dei canali del $Ca^{2+}$ voltaggio-dipendenti presenti sulle terminazioni nervose presinaptiche e così pure sulle cellule del microcitoma, di derivazione ectodermica.

Oltre che dall'associazione con altre malattie autoimmuni e dalla presenza frequente di autoanticorpi, in presenza o meno di tumore, l'origine autoimmune della sindrome di Eaton-Lambert è dimostrata da diversi altri elementi. In primo luogo dall'associazione con il sistema antigenico HLA-B8 e con il *marker* Glm (r) in *linkage* con la regione costante delle catene pesanti delle IgG. Inoltre, dalla possibilità di trasferire passivamente il quadro della malattia in animali da esperimento attraverso l'iniezione di IgG purificate provenienti da pazienti con sindrome di Eaton-Lambert, con o senza tumore. Infine, dalla risposta positiva alla plasmaferesi e ai farmaci immunosoppressori.

È da notare che nessun dato clinico, neurofisiologico o immunogenetico consente di differenziare i casi di sindrome di Eaton-Lambert associati a tumore da quelli che non lo sono. Nel 40-50% dei casi, comunque, non è possibile identificare il fattore responsabile della risposta autoimmune. In termini generali, ciò significa che la stessa malattia autoimmune può essere scatenata da fattori diversi.

All'esordio della malattia, l'affaticabilità, il primo sintomo a comparire, spesso non viene riconosciuta oppure è attribuita erroneamente alla malattia neoplastica; ha la caratteristica di colpire prevalentemente i muscoli del tronco, dei cingoli e quelli prossimali degli arti, specie di quelli inferiori; sono anche frequenti dolore e rigidità dei muscoli interessati. Meno frequente, ma possibile, l'interessamento della muscolatura craniale con ptosi, disartria, disfagia e diplopia. Dal 50 al 75% dei casi, e spesso all'esordio della malattia, sono presenti disturbi della sezione parasimpatica del sistema nervoso autonomo, come secchezza delle fauci, impotenza, alterazioni dei riflessi pupillari e della visione, disturbi della motilità vescicale e intestinale, ipotensione ortostatica. I riflessi profondi sono spesso ridotti a riposo, ma possono migliorare dopo una contrazione muscolare massimale; in caso di areflessia, in ogni caso, ci si dovrebbe porre il problema di un'eventuale polineuropatia associata al tumore.

La sindrome inizia in genere in modo subacuto e ha decorso progressivo.

La diagnosi differenziale con la *myasthenia gravis* si basa, oltre che sulle caratteristiche cliniche, sull'esame elettrofisiologico che dimostra in caso di *myasthenia gravis* una risposta decrementale alla stimolazione ripetitiva, risultato attribuibile al blocco postsinaptico.

Nella terapia vengono impiegate, tra l'altro, le sostanze che facilitano la trasmissione neuromuscolare, che però hanno dato risultati contraddittori. La *piridostigmina*, per es., è poco efficace mentre la *guanidina*, che lo è di più, ha un uso limitato a causa della sua tossicità per i reni e per il midollo osseo. Di recente è stata usata la *3,4-diaminopiridina*, una sostanza che blocca i canali del potassio e aumenta la liberazione dei quanti di ACh. La sua utilità è stata confermata da diverse indagini, ma ancora non se ne conoscono gli effetti a lungo termine. Risposte più durature sono state riportate con l'associazione plasmaferesi-corticosteroidi-immunosoppressori.

Ricordiamo, in conclusione, che la diagnosi di sindrome di Eaton-Lambert impone la ricerca accurata e ripetuta di una neoplasia il cui trattamento, in genere, migliora il disturbo neurologico. In alcuni casi, d'altra parte, il disturbo ha un andamento oscillante indipendentemente dalla risposta alla terapia oncologica.

**Sindromi miasteniche farmaco-indotte**

Si tratta di quadri raramente osservati nella pratica clinica anche se un gran numero di farmaci possono interferire con la trasmissione neuromuscolare; in una rassegna ne sono stati elencati più di 30, oltre agli anestetici (Argon *et al.*, 1971). Tra quelli coinvolti più di frequente, antibiotici aminoglicosidici e polimixine, mentre più rara è l'associazione con streptomicina, tetracicline, antiaritmici, litio, betabloccanti e fenotiazine. I farmaci possono interferire con la liberazione dell'ACh dalle terminazioni nervose per ridotto flusso degli ioni $Ca^{2+}$ potenziando in tal modo l'effetto di blocco neuromuscolare operato, per es., dagli anestetici, in particolare in caso di preesistente *myasthenia gravis*. In ogni caso, si tratta di reazioni indesiderate più probabili in caso di sovradosaggio e d'insufficienza epatica o renale.

Sostanze come ACTH, prednisone e azatioprina peggiorano temporaneamente la miastenia a causa dell'azione depolarizzante sulle terminazioni nervose, o diminuendo la liberazione di neurotrasmettitore. Anticolinesterasici come alcuni insetticidi, i gas nervini e gli stessi farmaci usati per la miastenia, se sovradosati, causano o possono peggiorare le s. m. a causa del blocco dell'enzima colinesterasi; l'ACh non idrossilata si accumula sulla placca nervosa determinando una depolarizzazione (blocco colinergico).



Digitized by Google

La tossina botulinica si lega alle terminazioni nervose colinergiche impedendo il rilascio dei quanti di ACh e determinando in tal modo un blocco presinaptico come avviene nella sindrome di Eaton-Lambert. Il quadro migliora con la graduale eliminazione della tossina impiegando la *guanidina* o la *3,4-aminopiridina*.

La *D-penicillamina*, infine, determina un quadro clinico ed elettrofisiologico del tutto simile alla *myasthenia gravis* attraverso un meccanismo autoimmune.

In tutti questi casi il disturbo miastenico, che è acuto e dura ore o giorni, può interessare i muscoli del bulbo oculare, oculari, facciali e degli arti. L'evenienza più temibile è l'insufficienza respiratoria per interessamento dei muscoli della parete toracica. Il trattamento consiste, oltre che nella sospensione dei farmaci, nell'infusione di calcio gliconato e anticolinesterasici.

Per quanto riguarda le forme congenite e familiari delle s. m., v. MIASTENIA*.

**Bibliografia**

Argoa S., Mastaglia F. L., *N. Engl. J. Med.*, 1979, **301**, 409.
Dropchs E. J., *The Remote Effect of Cancer on the Nervous System*, in *Neurologic Clinics*, 1989, vol. VII, n. 3, pp. 579-603.
Eaton L. M., Lambert E. H., *J.A.M.A.*, 1957, **163**, 1117-1124.
Engel A. G., *Ann. Neurol.*, 1984, **16**, 519.
McEvoy K. M., *Ann. Neurol.*, 1988, **24**, 122.
Newson-Davis J., Murray N. M., *Neurology*, 1984, **34**, 480.
O'Neill J. H., Murray N. M. F., *Brain*, 1988, **111**, 577-596.
Rowland L. P., *Disturbi della trasmissione nervosa a livello della sinapsi neuromuscolare: la miastenia gravis*, in Kandel E. R., Schwartz J. H. ed., *Principi di Neuroscienze*, 1988, Editrice Ambrosiana, Milano.
Swift T. R., *Muscle Nerve*, 1981, **4**, 334.

FRANCESCA LORUSSO

## MICOBATTERIOSI [v. vol. IX, col. 1124]

### Micobatteriosi e AIDS

Nei soggetti affetti da AIDS (v. SINDROME DA IMMUNODEFICIENZA ACQUISITA) o immunodepressi HIV-positivi, le complicanze infettive opportunistiche polmonari più frequentemente osservate sono sostenute principalmente da *Pneumocystis carinii*, cui seguono le micobatteriosi (infezioni da micobatteri atipici), le infezioni da citomegalovirus, da *Mycobacterium tuberculosis*, da *Cryptococcus*, da *Toxoplasma gondii* e da *Candida albicans* o *tropicalis*.

Quando un paziente HIV-positivo, presenta una m. o una tubercolosi extrapolmonare, queste malattie sono da considerarsi come indicatrici di AIDS conclamato.

Per quanto riguarda le m., in generale l'associazione con l'infezione da HIV è da considerarsi una evenienza frequente: infatti la presenza di micobatteri atipici è stata rilevata in oltre il 50% dei pazienti deceduti per AIDS e sottoposti ad autopsia. La complicanza micobatterica può manifestarsi sia in fase di AIDS, che di ARC e, quando avviene, tale evenienza rappresenta sempre un segno prognostico sfavorevole.

Le localizzazioni delle m. riguardano soprattutto la milza, i linfonodi ed il fegato, seguono il polmone ed il pancreas, ma sono stati segnalati interessamenti anche a carico della tiroide, dei surreni, dell'apparato gastroenterico e del midollo osseo.

I quadri clinico-radiologici risultano atipici sia per sede che per morfologia. Nelle lesioni polmonari sono più frequenti i quadri infiltrativi miliariformi dell'interstizio rispetto a quelli nodulari multipli classici della tbc areattiva; le aree di caseosi hanno scarsi caratteri di specificità; all'esame istologico i granulomi risultano poveri di linfociti.

La sintomatologia di queste m. in corso di AIDS è poco caratteristica e consiste in febbre elevata e astenia profonda; inoltre possono essere presenti dolori addominali con diarrea nei pazienti con interessamento addominale, dispnea e tosse con espettorato in quelli con implicazione polmonare. I quadri radiologici toracici evidenziano adenopatie ilari o infiltrati miliariformi che interessano sia i campi superiori, che quelli inferiori. Le lesioni infiltrativo-cavitarie sono più frequenti nei processi tubercolari che nelle m.; inoltre esse costituiscono una evenienza molto rara nei pazienti americani o nordeuropei, mentre in Italia si osservano con una percentuale maggiore.

Per quanto riguarda invece l'associazione tubercolosi-AIDS va segnalata la maggiore frequenza della tbc disseminata ed extrapolmonare rispetto a quella polmonare isolata. La localizzazione più frequente risulta la tbc linfonodale, seguita da quella polmonare, ma possono essere interessati anche l'apparato genitourinario, il fegato, l'apparato scheletrico e il S.N.C. La localizzazione polmonare, secondo i vari AA., si presenta in percentuali variabili fra il 27 ed il 40%.

La diagnosi sia della m. che della tbc va posta mediante l'esame colturale dell'espettorato, seguito dalla tipizzazione dei microrganismi e dall'antibiogramma, associati eventualmente allo studio del polmone profondo attraverso il lavaggio broncoalveolare (v.*) ed eventualmente attraverso la biopsia polmonare transbronchiale; possono risultare a volte utili anche una emocoltura, una urinocoltura, una mielocoltura ed una coprocoltura.

Per un giudizio diagnostico si possono usare le tubercoline estratte da colture dei vari micobatteri atipici: esse sono denominate «micobatterine» o «sensitine» e ve ne sono in commercio circa una dozzina, preparate dallo *Staten Serum Institute* di Copenhagen. Va tuttavia ricordato che in questi pazienti il test risulta spesso negativo e quindi poco indicativo in quanto si tratta di soggetti immunodepressi, in cui si riscontra una netta riduzione dell'immunità cellulomediata con marcato deficit dei linfociti T-*helper*. Anche nell'associazione tubercolosi-AIDS il test tubercolinico è positivo in percentuale assai modesta (8-40% a seconda delle casistiche).

Tra i vari micobatteri atipici predomina nettamente il *M. avium* (soprattutto il complesso *M. avium-intracellulare*; circa il 90%), ma è possibile reperire anche i seguenti micobatteri: *M. xenopi*, *kansasii*, *fortuitum*, *scrofulaceum* e *gordonae* (Young *et al.*, 1986; Hawkins *et al.*, 1986).

Poiché la crescita sul terreno di coltura risulta, come noto, lenta, sono stati recentemente proposti altri metodi. Tra questi ricordiamo la cromatografia su strato sottile per lo studio dei lipidi estratti dalla parete cellulare e la gascromatografia mediante l'analisi di acidi grassi cellulari a lunga catena. Con tali metodiche si può ottenere una rapida identificazione dei micobatteri atipici in base ai tracciati cromatografici. Infine vanno ricordate le tecniche emergenti, come le sonde di ac. desossiribonucleico (DNA-*probes*) per una rapida e specifica individuazione batterica e di test sierologici con anticorpi monoclonali per la dimostrazione di antigeni nei fluidi organici.

La prognosi per quanto riguarda la m. nell'AIDS è generalmente riservata, poiché questi pazienti non rispondono favorevolmente alla terapia antimicobatterica una volta instaurata; va ricordato tuttavia che la mortalità diretta non è facile da valutare perché questa complicanza è piuttosto tardiva nei malati di AIDS e non è agevole stabilire se la causa di morte sia data dalla prima o dalla seconda evenienza; in genere la sopravvivenza media dei pazienti, una volta accertata la m., è di pochi mesi.

Dal punto di vista terapeutico l'associazione più attiva risulta quella con rifabutina (un farmaco appartenente al





Digitized by Google

gruppo del rifamicine) alla dose di 450-600 mg/*die*, etambutolo 1200 mg/*die* e isoniazide 300-500 mg/*die* per sei giorni alla settimana per 2-6 mesi. Altri farmaci utilizzati in via sperimentale comprendono l'amikacina e i chinolonici.

**Bibliografia**

Esposito R., *Lotta contro la tbc*, 1988, **58**, 258.
Hawkins C. C., Gold J. W. M., Whimbey E. *et al.*, *Ann. Intern. Med.*, 1986, **105**, 184.
Kiehn T. E., Edwards F. F., Brannon P., Tsang A. Y., *J. Clin. Microb.*, 1985, **21**, 168.
Mandler F., Peona V., *Micobatteriosi e Micobatteri non tubercolari*, 1987, Masson Italia, Milano.
O'Brein R. I., Lyle M. A., Snider D. E. jr., *Rev. Infect. Dis.*, 1987, **9**, 519.
Pitchenik A. E., Cole C., Russel B. W. *et al.*, *Ann. Intern. Med.*, 1984, **101**, 461.
Selik R. M., Starcher E. T., Curran J. W., *AIDS*, 1987, **1**, 175.
Young L. S., Inderlied C. B., Berlin O. G., Goulieb M. S., *Rev. Infect. Dis.*, 1986, **6**, 1024-1033.
Zubiani M., *Riv. Tuberc. Mal. App. Resp.*, 1989, **21**, 97.

MICHELE LUCCHESI

## MICROCIRCOLAZIONE [v. vol. IX, col. 1202]

SOMMARIO



### Definizione

Per *microcircolazione* s'intende la circolazione del sangue nei piccoli vasi, che comprendono le arteriole di diametro inferiore ai 100 μm, i capillari e le venule.

### Morfologia del microcircolo

La configurazione delle reti microvascolari (fig. 1) varia molto da organo a organo, la loro organizzazione essendo in stretta relazione con la funzione dell'organo e del tessuto. Il numero dei capillari per unità di massa di organo o tessuto (*densità capillare*) è in relazione all'attività metabolica di un organo (cuore, cervello, muscolo) o ad altre attività funzionali (pelle, mucosa intestinale, rene). Tuttavia, nonostante la notevole diversità tra i differenti microcircoli è possibile definire delle caratteristiche comuni per quanto riguarda i vasi.

Le *arteriole* sono caratterizzate da uno strato di cellule endoteliali e da una tonaca media composta da un unico strato di cellule muscolari, che vanno diradandosi fino a diventare gruppi di cellule nelle arteriole più piccole, nelle quali l'endotelio è continuo e riposa su una lamina basale.

Le arteriole di diametro medio di 8-10 μm sono chiamate *arteriole terminali* (o *metarteriole*, secondo la classificazione della Wiedeman). Esse controllano in alcune reti microvascolari la distribuzione del sangue a gruppi di 8-32 capillari (*unità microvascolari*). In altri distretti, gruppi di cellule muscolari, costituenti gli *sfinteri precapillari*, circondano all'origine ogni singolo capillare. Nel microcircolo di alcuni organi si distinguono i *capillari preferenziali*, che derivano dalla metarteriola ed hanno una struttura identica, ma un diametro superiore ai capillari. Essi servono a deviare il sangue dal versante arterioso a quello venoso delle unità microcircolatorie.

I *capillari* sono i più piccoli vasi della rete microvascolare (diametro: 4-7 μm). Le loro pareti sono caratterizzate da uno strato di cellule endoteliali circondato dalla membrana basale e, occasionalmente, da cellule dette *periciti*. Il versante luminale dell'endotelio è ricoperto da glicosaminoglicani.

Si distinguono tre tipi di capillari: *capillari di 1° tipo*, con endotelio continuo. In essi le cellule endoteliali formano uno strato continuo e sono rivestite all'esterno da una sottile lamina basale continua. Essi sono presenti nella cute, nel tessuto sottocutaneo, nel tessuto muscolare striato e liscio, nel tessuto adiposo, nel S.N.C. e periferico, nel cuore, nei polmoni e nel mesentere. *Capillari di 2° tipo* o *capillari fenestrati*. In essi le cellule endoteliali si presentano in alcuni punti estremamente assottigliate e sono presenti pori circolari di 40-50 Å e *fenestrae* di 500-600 Å di diametro. Le *fenestrae* possono essere ricoperte da un diaframma molto sottile. All'esterno dell'endotelio la lamina basale appare continua e passa a ponte sulle fenestrazioni. Essi si trovano nelle ghiandole endocrine o esocrine, nella mucosa gastrica e intestinale, nei glomeruli e tubuli renali, nella membrana sinoviale. *Capillari di 3° tipo* o *sinusoidi*. In essi lo strato endoteliale non presenta continuità e la membrana basale può mancare del tutto. Si trovano nella milza, nel midollo osseo e nel fegato.

Fig. 1. Schema generale del microcircolo con le sue principali componenti: le arteriole, i capillari, le venule e i linfatici. *ta*, Arteriola terminale; *c*, capillare; *l*, linfatico; *tb*, vaso linfatico terminale. Le *frecce* mostrano la direzione del flusso di sangue e della linfa. La topologia è quella di un tessuto sottile (come il mesentere). (*Da E. M. Renkin*, 1989).

Le *venule* più piccole (diametro: 20-30 μm) non presentano cellule muscolari e permettono gli scambi con l'interstizio. Le venule più grandi presentano la componente muscolare e fungono da vasi a capacitanza.

I *linfatici* sono un sistema di vasi a pareti molto sottili che si originano negli spazi interstiziali in vicinanza delle unità microvascolari di tutti gli organi (eccetto il cervello e il midollo osseo). Trasportano la linfa, che viene riversata nelle grandi vene. La parete dei vasi linfatici consiste di uno strato di cellule endoteliali e della membrana basale. I linfatici più grandi presentano fibre muscolari che ne permettono la contrazione.

### Permeabilità della parete endoteliale e meccanismi di trasporto

L'apparato vascolare veicola le sostanze nutritizie, l'ossigeno, gli ormoni a tutte le cellule dell'organismo, prelevandone i secreti, l'anidride carbonica e i cataboliti per distribuirli o convogliarli agli organi escretori; pertanto, uno dei meccanismi fondamentali per l'omeostasi dell'organismo è lo scambio delle sostanze attraverso le pareti dei microvasi.

Il passaggio dei liquidi e soluti attraverso i capillari può avvenire come *trasporto transmembranario*, ossia attraverso le pareti ed il citoplasma delle cellule endoteliali, che sono





Digitized by Google

permeabili all'acqua, alle piccole molecole e alle molecole liposolubili. Vi è poi un secondo tipo di trasporto transcellulare attraverso le vescicole del plasmalemma, detto *transcitosi*. Le vescicole possono anche fondersi tra loro e dare origine a dei veri e propri canali. Il terzo tipo di trasporto è rappresentato dal passaggio di liquidi e soluti attraverso le *fenestrae* ed interessa solo i capillari fenestrati.

Le vescicole, i canali e le *fenestrae* possono contribuire notevolmente al passaggio delle macromolecole proteiche. Le cellule endoteliali dei capillari continui formano al loro interno un gran numero di vescicole, al contrario dei capillari fenestrati, che non ne presentano molte.

Esiste, inoltre, un quarto tipo di trasporto detto *paracellulare*, che riguarda le cosiddette *giunzioni strette*, proprie dei capillari cerebrali, formate dalla giustapposizione delle cellule endoteliali. In corrispondenza dei punti di giunzione tra le cellule endoteliali contigue le membrane plasmatiche affrontate sono per lo più separate da uno spazio di 150-200 Å; in alcuni punti, però, si avvicinano e i loro foglietti esterni sembrano fondersi. Queste regioni, secondo alcuni AA., potrebbero essere interpretate come *zonulae occludentes*, mentre secondo altri potrebbero essere considerate come pori selettivi per l'acqua e piccoli soluti.

In generale, possiamo dire che i capillari presentano una notevole permeabilità all'acqua, ai soluti ed anche alle macromolecole proteiche. Tuttavia capillari morfologicamente simili possono presentare notevoli differenze regionali di permeabilità.

**Diffusione**

Gli scambi nutritizi tra sangue e tessuti avvengono principalmente attraverso le pareti dei capillari e delle venule postcapillari e collettrici. I capillari offrono una enorme superficie di scambio. Si ritiene che vi siano circa 1700-2000 capillari per $mm^2$ di tessuto muscolare scheletrico e si valuta che in un individuo di 70-75 kg vi siano 6000 $m^2$ di superficie capillare.

I meccanismi che permettono gli scambi di liquido e di soluti sono due: la diffusione e l'ultrafiltrazione. Si è calcolato che il volume di acqua e di soluti che diffonde attraverso l'endotelio è 120 l/min; pertanto, 3,2 l di plasma sono scambiati ogni 1,6 sec per diffusione.

La diffusione di piccoli ioni e molecole (p.m. intorno a 5000) non dipende dalla pressione microvascolare, ma dal loro gradiente di concentrazione, dalla loro permeabilità e dall'area del microcircolo interessata dal processo diffusivo, secondo la formula seguente derivata dalla *legge della diffusione dei gas di Fick:*

$$J_s = PA\,(c_p - c_i)\ ,$$

ove $J_s$ rappresenta la diffusione del soluto dal capillare, $c_p - c_i$ è la differenza di concentrazione del soluto nel plasma e nel tessuto interstiziale, P è un coefficiente di permeabilità per quel determinato soluto ed A è la superficie interessata agli scambi.

*La diffusione e il flusso*

Se la permeabilità di un dato soluto lungo il capillare è alta, la concentrazione del soluto diminuisce velocemente allo scorrere del sangue; pertanto, il trasporto del soluto è largamente dipendente dal flusso ed è detto *flusso-limitato*. Questo avviene per l'ossigeno, per l'anidride carbonica e per le sostanze liposolubili. Per i soluti a bassa permeabilità la differenza di concentrazione arterovenosa è ridotta; pertanto, il loro trasporto viene definito *diffusione-limitato*. Per valori medi di PA, $J_s$ dipende sia da PA che da F (ossia il flusso ematico) secondo la seguente relazione:

$$J_s = F\,(c_a - c_i)\,(1\text{-}e^{-PA/F})\ ,$$

*dove* $c_a$ è la concentrazione del soluto nel sangue arterioso, $c_i$ la concentrazione del soluto nell'interstizio ed $e$ è la base del logaritmo naturale, uguale a 2,718.

*Ultrafiltrazione*

Gli scambi capillari sono regolati dalla *legge di Starling* che nella sua formulazione più semplice ed aggiornata è:

$$\frac{J_v}{S} = L_p\,[(P_c - P_i) - \sigma(\pi_c - \pi_i)]\ ,$$

dove $J_v/S$ è il volume di liquido per unità di superficie che si forma in ogni punto del microcircolo. $L_p$ è la conduttività idraulica della parete microvascolare e $\sigma$ è il coefficiente di riflessione delle proteine plasmatiche; $P_c$ è la pressione idrostatica capillare e $P_i$ è la pressione idrostatica interstiziale; $\pi_c$ e $\pi_i$ rappresentano le pressioni colloido-osmotiche nel plasma e nell'interstizio. La pressione idrostatica capillare determina il passaggio di liquido negli spazi interstiziali, mentre la pressione colloido-osmotica od oncotica del plasma tende a richiamare il liquido all'interno dei capillari. Inoltre, si devono considerare la pressione idrostatica interstiziale e la pressione colloido-osmotica interstiziale. La pressione colloido-osmotica è data dalla concentrazione delle proteine nel plasma e nel liquido interstiziale. Se assumiamo che la pressione oncotica del plasma è di 20 mmHg, la pressione oncotica interstiziale è di 6-8 mmHg. La pressione idrostatica interstiziale varia da organo a organo e sembra avere un valore di −2 mmHg nel tessuto sottocutaneo. Nel fegato, nel rene e nel cervello sembra avere un valore positivo. A seconda della loro positività o negatività le pressioni interstiziali si sottraggono o si sommano alla pressione idrostatica capillare.

Sul versante capillare in cui la pressione idrostatica capillare supera la somma delle forze $[P_i + \sigma\,(\pi_c - \pi_i)]$ vi è filtrazione; sul versante in cui la pressione idrostatica capillare risulta minore vi è passaggio di liquido all'interno del vaso. La pressione capillare è certamente un parametro di difficile misurazione e molto variabile, come dimostrato da recenti misurazioni effettuate nell'uomo, nel quale si sono rilevati valori di 30-32 mmHg nella cute.

La pressione idrostatica capillare è regolata dalla vasomotilità delle arteriole terminali, che si contraggono e si rilasciano ritmicamente. L'attività dei vasi terminali determina variazioni ritmiche della pressione capillare, che raggiunge il suo massimo quando le arteriole si dilatano, mentre diminuisce quando le arteriole si costringono. In molti tessuti è stato osservato che i vasi arteriosi possono costringersi al punto di obliterare il loro lume. In queste condizioni, la pressione capillare raggiunge valori molto bassi fino ad eguagliare la pressione delle venule. In questo modo la vasomotilità arteriolare influenza in maniera marcata gli scambi microvascolari. Infatti i capillari possono fungere da elementi *filtranti* quando le arteriole si dilatano e la pressione capillare è maggiore, e possono funzionare da elementi *riassorbenti* quando, in coincidenza della contrazione arteriolare, la pressione capillare al loro interno tende a ridursi e viene superata dalla pressione oncotica.

Inoltre, le ritmiche variazioni del diametro delle arteriole possono contribuire ad elevare o ad abbassare anche la pressione idrostatica interstiziale, che nelle fasi di dilatazione arteriolare può diventare positiva, mentre nelle fasi di contrazione può ridursi a valori negativi. Pertanto il gioco delle opposte forze, che determina la forza filtrante netta, dipende in maniera evidente dalla vasomotilità arteriolare. Recenti studi hanno dimostrato che le arteriole terminali hanno frequenze di vasomotilità intorno a 10 cicli/min, mentre le arteriole più grandi presentano una frequenza ridotta.





Digitized by Google

Il processo di filtrazione-riassorbimento è di notevole importanza fisiologica, perché permette il passaggio di grossi volumi tra i compartimenti intra- ed extravascolare, quando le condizioni lo richiedono.

**Fattori determinanti la pressione capillare**

Nel tessuto a riposo il sangue viene distribuito tra le diverse unità microcircolatorie a seconda dell'attività delle arteriole terminali, che determinano una periodica perfusione dei capillari. Nel tessuto attivo le arteriole terminali sono dilatate e la pressione e il flusso dei capillari aumentano. La pressione capillare dipende da $R_a$, la resistenza dei vasi al disopra del capillare, $R_v$, la resistenza al di sotto, $P_a$ e $P_v$, le pressioni arteriosa e venosa. La relazione tra la pressione capillare e la pressione arteriosa e venosa dipende dal rapporto della resistenza arteriosa rispetto alla resistenza venosa:

$$P_c = \frac{(R_v/R_a)\,P_a + P_v}{1 + (R_v/R_a)}.$$

In questo modo la pressione capillare può aumentare se le resistenze postcapillari aumentano o diminuire se aumentano le resistenze precapillari. La relazione che lega la resistenza precapillare e postcapillare non è tuttavia semplice perché il rapporto tra resistenze pre- e postcapillari è approssimativamente 4:1. Le variazioni del rapporto $R_v/R_a$ determinano un meccanismo di controllo della pressione capillare, che è regolata entro larghe variazioni della pressione arteriosa e venosa.

**Regolazione del microcircolo**

I meccanismi che regolano il flusso di sangue nel microcircolo possono essere *miogeni*, *nervosi*, *metabolici* ed *umorali*.

La *distensione del vaso* per un aumento di flusso costituisce uno stimolo fondamentale per la contrazione delle fibrocellule muscolari delle pareti arteriolari, secondo la teoria miogena. In questo modo il microcircolo riesce a mantenere costante il flusso ematico nonostante le variazioni della pressione sistemica.

Le resistenze periferiche totali sono regolate principalmente dall'attività del *sistema nervoso simpatico*. L'attività del controllo nervoso è coordinata e integrata dal centro vasomotore. Molti organi differiscono tra loro proprio nella misura in cui essi dipendono dal controllo centrale, e nella misura in cui posseggono la capacità di autoregolarsi. Molti studi morfologici hanno dimostrato notevoli differenze nella densità di terminazioni simpatiche nei microvasi dei diversi organi e tessuti. Il sistema nervoso simpatico innerva le arteriole più piccole fino agli sfinteri precapillari, anche se questi mostrano una notevole sensibilità ai fattori metabolici e umorali, e le venule muscolari.

Le arteriole possono rispondere agli *stimoli metabolici* che si generano nei tessuti; man mano che aumenta il metabolismo tessutale, si accumulano metaboliti intorno agli sfinteri precapillari, determinando vasodilatazione. La dilatazione permette un aumento del flusso ematico, che determina una migliore ossigenazione e favorisce l'allontanamento dei prodotti catabolici. L'aumento della pressione parziale di anidride carbonica causa vasodilatazione.

L'ossigeno è un altro fattore importante: una diminuzione della pressione parziale di ossigeno nei tessuti determina vasodilatazione, con riduzione della resistenza precapillare; fa eccezione il microcircolo polmonare. Altri fattori di regolazione da prendere in considerazione sono il pH, il potassio, l'osmolarità.

Molti *ormoni* circolanti possono avere un notevole effetto sul microcircolo, come le catecolamine, l'angiotensina II, la vasopressina, l'ossitocina nonché un gran numero di sostanze come l'istamina, la serotonina, le chinine, le prostaglandine, le prostacicline, i trombossani, i fattori vasodilatanti e vasocostrittori di origine endoteliale.

**Attività metabolica delle cellule endoteliali**

L'endotelio gioca un ruolo fondamentale nel controllo del tono muscolare delle arteriole e nell'omeostasi. Il ruolo dell'endotelio nel circolo comprende: 1. la prevenzione dell'adesione leucocitaria e piastrinica; 2. la produzione di fattori coinvolti nella coagulazione del sangue (ad es., il fattore VIII di von Willebrand, attivatori e inibitori del plasminogeno); 3. l'attivazione (ad es. dell'angiotensina) e la inattivazione (ad es. di noradrenalina, serotonina, bradichinina, adenosina 5-difosfato), di ormoni circolanti e di altri costituenti plasmatici; 4. la sintesi e la secrezione di sostanze vasodilatatrici (prostacicline, fattore endoteliale rilasciante) e di sostanze vasocostrittrici (endoteline, trombossani, angiotensine, istamina); 5. la produzione di un fattore eparino-simile inibitore della crescita cellulare e di un fattore che potrebbe regolare la crescita delle cellule muscolari sottostanti; 6. la produzione di glicosaminoglicani, mucopolisaccaridi e di fibronectina.

V. CAPILLARI (III, 654); CIRCOLATORIO APPARATO (III, 2283); MEMBRANE BIOLOGICHE (IX, 770); MEMBRANE BIOLOGICHE*; VASCOLARI ENDOTELIALI FATTORI*; VASOMOTILITÀ (XV, 1796).

**Bibliografia**

Johnson P. C., *Circulation Res.*, 1986, **59**, 5, 483.
Renkin E. M., in Patton H. D., Fuchs A. F., Hille B., Scher A., Steiner R. eds., *Textbook of Physiology. II. Microcirculation and Exchange*, 1989, Saunders, Philadelphia, p. 860.
Simionescu N., *Physiol. Rev.*, 1983, **63**, 4, 1536.
Wiedeman M. P., Tuma E. R., H. N. May, in Noordegraaf A. eds., *An Introduction to Microcirculation. Biophysics and Bioengineering Series*, 1981, Academic Press, New York.

SILVIA BERTUGLIA E ANTONIO COLANTUONI

## MICRODIALISI

F. *microdialyse*. - I. *microdialysis*. - T. *Mikrodialysis*. - S. *microdiálisis*.

SOMMARIO



**Definizione e introduzione**

La microdialisi è una tecnica — usata prevalentemente nei laboratori di ricerca biologica — che consente di misurare nel tempo le variazioni della concentrazione di sostanze endogene presenti nello spazio interstiziale dei tessuti animali.

La tecnica consiste nell'introduzione di una sonda da m. nel tessuto dell'animale da esperimento anestetizzato. La perfusione della sonda consente la raccolta e la successiva misurazione delle sostanze presenti nel fluido extracellulare. Alla base della tecnica è l'idea di utilizzare delle sonde che simulino i vasi sanguigni nella loro funzione di scambio di sostanze con i tessuti circostanti, con lo scopo di ottenere informazioni sul ruolo di vari composti endogeni in relazione alla variazione delle condizioni sperimentali (Ungerstedt, 1984).

La tecnica è stata utilizzata per la misurazione di neurotrasmettitori, ormoni, metaboliti, sostanze nutritizie, far-



Digitized by Google

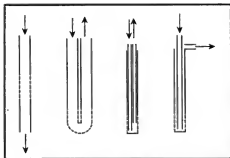



Fig. 1. Differenti tipi di sonde per m. Le *frecce* indicano la direzione del flusso della soluzione di perfusione. La membrana dialitica è indicata dalla zona tratteggiata.

maci e di altre sostanze. Virtualmente qualsiasi sostanza in grado di attraversare la membrana della sonda può essere misurata se si dispone di un metodo analitico sufficientemente sensibile e selettivo. Sebbene sia attualmente applicata a diversi organi e tessuti, la tecnica è stata principalmente utilizzata per lo studio del tessuto nervoso a partire dai primi esperimenti effettuati all'inizio degli anni '70.

**Principi e tecniche**

La tecnica della m. si avvale dell'uso di membrane dialitiche, cioè di membrane permeabili ai soluti di basso peso molecolare e all'acqua, con le quali vengono preparate le sonde da m. Le sonde utilizzate sono costruite con fibre cave, già usate in medicina per altri scopi (emodialisi), di diametro esterno compreso tra 0,2 e 0,5 mm. Le fibre vengono incollate a due tubicini — di acciaio inossidabile o di silice fusa — che oltre ad avere funzione di supporto ne permettono la perfusione. I differenti tipi di sonda che vengono attualmente utilizzati sono rappresentati schematicamente nella fig. 1.

Oltre a differire per forma geometrica e dimensioni, le membrane delle sonde sono fatte di materiali diversi che comprendono derivati della cellulosa (cuprophan, emophan) e diversi polimeri sintetici (polisulfone, policarbonato, policarbonato-etere, poliacrilonitrile). Le dimensioni dei pori della membrana da dialisi determinano il limite di peso molecolare al di sopra del quale il passaggio delle molecole di un composto viene impedito. Questo limite varia da 3000 d, per le membrane più selettive, fino a circa 50.000 d.

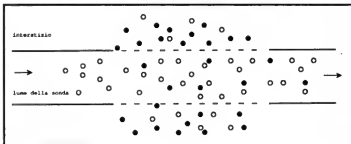
Il passaggio dei soluti attraverso la membrana avviene per diffusione passiva determinata dal gradiente di concentrazione creato dalla perfusione continua della sonda. Nel tessuto, la membrana della sonda per m. (fig. 2) separa due compartimenti: lo spazio extracellulare all'esterno e il lume della sonda all'interno. La sonda viene perfusa a flusso costante (generalmente compreso tra 0,2 e 5 μl/min) da una soluzione fisiologica avente composizione ionica, pH e osmolarità simili a quelle del fluido extracellulare (Benveniste e Hüttemeier, 1989), ma priva delle sostanze che si vogliono raccogliere. In base ai principi suddetti le sostanze presenti nell'interstizio diffondono attraverso la membrana ed entrano nel lume della sonda dove vengono trasportate verso l'uscita dalla soluzione di perfusione.

I campioni di perfusato vengono raccolti in sequenza e successivamente analizzati con tecniche analitiche di vario genere.

Una tecnica spesso usata per la misura di monoamine, aminoacidi, purine, lattato, piruvato, ac. ascorbico e ac. urico è la cromatografia liquida abbinata a rivelatori fluorimetrici, fotometrici o elettrochimici. Per altre sostanze di natura peptidica il metodo di scelta è quello radioimmunologico. In misura minore vengono usati anche la spettrometria di massa e metodi radioenzimatici.

Per determinare la concentrazione effettiva di una sostanza endogena nello spazio extracellulare è necessario conoscere l'efficienza con la quale una sostanza viene recuperata nel dialisato. Il recupero è il rapporto tra la concentrazione di una sostanza nel dialisato e quella della stessa sostanza nel *medium* esterno alla sonda (recupero = conc. [x] nel dialisato/conc. [x] nel *medium*). Esso viene calcolato per mezzo di una calibrazione *in vitro* che consiste nell'immersione della sonda in un *medium* a concentrazione nota della sostanza in esame. La sonda viene perfusa con una soluzione identica al *medium* ma priva della sostanza e i campioni di dialisato vengono raccolti in sequenza. Il recupero viene usato negli esperimenti *in vivo* per risalire alla concentrazione effettiva nel seguente modo: conc. eff. [x] = conc. [x] nel dialisato/recupero. Questa stima si basa sull'assunzione che le condizioni *in vitro* siano uguali a quelle *in vivo*. Questa stima è attendibile per il sangue ma lo è meno per il tessuto nervoso (e probabilmente per altri tessuti) dove la tortuosità dello spazio extracellulare costituisce un ostacolo alla libera diffusione. Inoltre le sostanze endogene possono essere metabolizzate, captate dalle cellule o entrare nei vasi sanguigni.

Sebbene non sia stata stabilita definitivamente la proce-

Fig. 2. In base ai principi della dialisi le sostanze presenti nell'interstizio (*pallini neri*) diffondono, attraverso la membrana (*linea tratteggiata*), nel lume della sonda. L'inclusione nel *medium* di perfusione di una sostanza esogena (*pallini bianchi*) ne permette la diffusione verso l'interstizio.

dura più corretta per la determinazione delle concentrazioni extracellulari delle sostanze endogene, sono stati proposti vari modelli matematici che tengono conto delle variabili citate (Benveniste e Hüttemeier, 1989). Il recupero di una sostanza nel dialisato è influenzato da diversi fattori: aumenta all'aumentare della superficie della membrana e della temperatura, mentre diminuisce all'aumentare del flusso di perfusione. Inoltre le sostanze permeanti possono aderire alla membrana con meccanismi non chiariti.

Utilizzando la m. nel cervello del ratto è stato visto che i risultati ottenuti variano in funzione dell'uso di anestetici, del tempo trascorso dall'impianto, della reazione del tessuto in seguito all'impianto della sonda, del tipo di sonda o della composizione del fluido di perfusione. Mentre il ruolo di alcune di queste variabili è stato chiarito, per altre è tuttora materia di discussione (Benveniste e Hüttemeier, 1989; Westerink *et al.*, 1987). Un altro problema è quello di stabilire se i neurotrasmettitori misurati nel dialisato riflettono la liberazione di queste sostanze dalle cellule nervose. È stato possibile dimostrare che la dopamina, la noradrenalina, l'acetilcolina e recentemente anche la serotonina misurate nel dialisato derivano dall'attività delle cellule nervose mentre gli aminoacidi sono, almeno in parte, di origine metabolica (Westerink *et al.*, 1987).

**Applicazioni**

La misura della concentrazione dei neurotrasmettitori nello spazio extracellulare cerebrale in varie condizioni sperimentali rappresenta il maggior campo di applicazione della m. Molti neurotrasmettitori come le monoamine, alcuni aminoacidi, l'acetilcolina e alcuni peptidi sono misurabili con questa tecnica.

La m. cerebrale viene ampiamente utilizzata per studi farmacologici (Di Chiara, 1990). Inizialmente gli studi farmacologici furono prevalentemente dedicati alla misura della liberazione e del metabolismo della dopamina in seguito alla somministrazione di farmaci antipsicotici e dell'anfetamina. Successivamente lo studio degli effetti degli psicofarmaci venne esteso agli altri neurotrasmettitori. Sempre nell'ambito della neurofarmacologia l'applicazione della m. nell'animale sveglio e libero di muoversi permette di correlare la liberazione di un neurotrasmettitore con un determinato comportamento (spontaneo o indotto farmacologicamente). È stata ad es. studiata la relazione tra gli effetti motori dei farmaci neurolettici e dell'anfetamina e le variazioni della liberazione di dopamina nel corpo striato. Più recentemente la liberazione di dopamina e di serotonina è stata misurata nell'ipotalamo del ratto durante l'assunzione di cibo.

Altri studi sono stati rivolti alla misura delle variazioni della concentrazione extracellulare di ac. glutammico, ac. aspartico, ac. gamma-aminobutirrico in alcune aree cerebrali in condizioni di ischemia cerebrale, nelle convulsioni indotte da ac. kainico e nell'ipoglicemia da insulina.

Tra le sostanze endogene misurate nello spazio extracellulare cerebrale vanno inoltre ricordate il lattato usato come indice del metabolismo cerebrale, il piruvato, l'ac. ascorbico, l'ac. urico, precursori e metaboliti delle monoamine, la colina, il calcio, l'adenosina, le purine.

Teoricamente utilizzabile in qualsiasi tessuto od organo, la m. è stata recentemente applicata al tessuto sottocutaneo per studi sulla lipolisi nell'animale da esperimento e la misura della concentrazione locale di glicoso nell'uomo.

L'introduzione di una sonda in un vaso sanguigno permette di misurare varie sostanze endogene nel tempo senza ricorrere a prelievi ripetuti che sarebbero problematici su animali di piccola taglia. È da notare che la concentrazione delle sostanze recuperate è direttamente proporzionale a quella presente in forma libera nel sangue. Ciò rende particolarmente interessante questa applicazione della m. per studi di tipo farmacocinetico.

Nel tratto gastrointestinale del coniglio la m. è stata usata per studiare la liberazione locale delle monoamine. Altre applicazioni più recenti riguardano lo studio della secrezione di catecolamine dalle ghiandole surrenali del ratto, misure farmacocinetiche nell'umor vitreo dell'occhio e misure della concentrazione extracellulare di aminoacidi nella muscolatura scheletrica e cardiaca.

Altre applicazioni delle m. sono in via di sviluppo. Particolarmente interessante è la possibilità di usare la m. a scopo medico.

La soluzione dei problemi metodologici e il miglioramento tecnologico costituiscono premesse essenziali alla comprensione delle potenzialità e dei limiti di questa tecnica.

**Bibliografia**

Benveniste H., Hüttemeier P. C., *Microdialysis – Theory and application*, in *Prog. Neurobiol.*, 1990, **35**, 195-215.
Di Chiara G., *Trends Pharmacol. Sci.*, 1990, **11**, 116-121.
Ungerstedt U., *Measurement of neurotransmitter release by intracranial dialysis*, in Marsden C. A. ed., *Measurement of neurotransmitter release in vivo*, 1984, Wiley, New York, pp. 81-105.
Westerink B. H. C., Damsma G., Rollema H., DeVries J. B., Horn A. S., *Life Sci.*, 1987, **41**, 1763-1776.

ROBERTO W. INVERNIZZI E ROSARIO SAMANIN

**MICROFOTOLISI**: v. MICROSPETTROSCOPIA*.

## MICROONDE

F. *micro-ondes*. - I. *microwaves*. - T. *Mikrowellen*. - S. *microondas*.

Con il termine *microonde* viene indicata quella parte dello spettro delle radiazioni elettromagnetiche compresa fra le frequenze di 300 MHz e 300 GHz, corrispondenti ad una lunghezza d'onda, in aria, compresa fra 1 m e 1 mm. Il relativo fotone trasporta un'energia così piccola da non essere in grado di provocare la ionizzazione degli eventuali materiali investiti; le m. appartengono, quindi, a quella parte dello spettro elettromagnetico individuata, anche, con il termine di *radiazione non ionizzante* (che si estende dai campi statici fino al vicino ultravioletto).

Il problema dosimetrico posto dalle m. può essere schematizzato nei termini seguenti: un organismo vivente, più comunemente un uomo o una sua parte, è immerso in un campo elettromagnetico incidente e, dalla conoscenza delle grandezze fisiche che caratterizzano questo campo (intensità del campo elettrico E, intensità del campo magnetico H, o potenza incidente), il modello matematico deve poter valutare i campi interni, la potenza dissipata e qualunque altra grandezza significativa dal punto di vista sanitario. La forma geometrica dell'oggetto è in genere irregolare, inoltre raramente esso si presenta come omogeneo, dato che l'organismo è composto di parti elettricamente molto diverse fra loro, separate da brusche superfici di discontinuità. Il problema può essere risolto soltanto ricorrendo a pesanti semplificazioni, in base alle quali il sistema biologico viene rappresentato attraverso forme geometriche semplici (strati piani, cilindri indefiniti, sfere, etc.) e il campo incidente è semplificato con forti idealizzazioni (in genere onde piane uniformi). Il problema della dosimetria è normalmente ricondotto al calcolo di un parametro riassuntivo denominato SAR (*Specific Absorption Rate*) che esprime la potenza assorbita per unità di massa (W/kg) del corpo investito (Franceschetti *et al.*, 1989).





Digitized by Google

Lo studio dei danni biologici prodotti dalle m. si svolge attraverso la sperimentazione su animali o su sistemi biologici *in vitro*. È stato così possibile stabilire una relazione tra alcuni effetti osservati e la quantità di energia elettromagnetica assorbita dal sistema irradiato. L'assorbimento di energia a radiofrequenza e m. provoca sempre, in tutti gli organismi biologici, lo sviluppo di una certa quantità di calore. La circolazione sanguigna attua una ridistribuzione del calore sviluppato e contribuisce a evitare che, in particolari situazioni di esposizione, la temperatura possa raggiungere, localmente, valori potenzialmente pericolosi. La analisi di questi effetti «termici» porta, di conseguenza, all'individuazione di alcuni organi «critici» in cui, essendo la vascolarizzazione modesta (gonadi maschili) o del tutto assente (cristallino), il calore può accumularsi e determinare un pericoloso aumento della temperatura.

L'American National Standards Institute (ANSI) ha eseguito una rassegna della letteratura (ANSI 1982) e scelto solo quei lavori che presentavano risultati positivi, riproducibili e accompagnati da un'adeguata informazione dosimetrica. Di questi rapporti selezionati è stata fatta una valutazione tale da definire se, o meno, gli effetti biologici riportati costituissero un rischio per la salute. Il comportamento negli animali da laboratorio è risultato il più sensibile indicatore di un effetto nocivo alla salute (per es. attività convulsiva, interruzione del lavoro, diminuzione dell'attività lavorativa, diminuzione della resistenza, percezione dell'esposizione al campo e comportamento avversivo). Sulla base della sua rassegna, l'ANSI ha concluso che l'esposizione acuta (minore di un'ora) a energia elettromagnetica depositata nel corpo intero al livello di un SAR medio minore di 4 W/kg non produce effetti nocivi negli animali da laboratorio. Tuttavia, poiché le esposizioni prolungate (giorni e settimane) possono causare danni, è stata decisa la riduzione di un fattore dieci del SAR ammesso (cioè 0,4 W/kg).

Due successive rassegne di vasta portata (Elder e Cahill, 1984; National Council on Radiation Protection and Measurements, 1986) hanno portato alla conclusione che possono evidenziarsi effetti indesiderati anche a livelli più bassi, suggerendo un valore di soglia del SAR medio a corpo intero per gli effetti sanitari pari a 1 W/kg (Elder e Cahill, 1984).

Nel 1988 il Comitato Internazionale per le Radiazioni Non Ionizzanti dell'Associazione Internazionale per le Protezioni Radiologiche (INIRC/IRPA) ha emanato linee guida (IRPA/INIRC, 1988) per la protezione dalle esposizioni a campi elettromagnetici a radiofrequenza, in particolare le m. Anche l'INIRC/IRPA ha accettato il valore limite di base medio di 0,4 W/kg per il corpo intero proposto dall'ANSI, ma ha concluso che non esistono adeguate basi scientifiche per una formulazione dei limiti di base in termini di SAR mediato su ogni grammo di tessuto e ha, invece, introdotto un limite per i lavoratori di 2 W per 0,1 kg per polsi e caviglie e di 1 W per 0,1 kg per tutti gli altri tessuti. Il valore medio di SAR di 0,4 W/kg dà luogo a un limite di esposizione a corpo intero di 28 W per la potenza assorbita da un uomo di 70 kg. Questo valore è ancora eccessivo se concentrato in una piccola regione ed è, quindi, necessario avere un limite aggiuntivo mediato su una minore quantità di tessuto. La massa di 0,1 kg, su cui effettuare la media, è stata scelta in quanto corrispondente a un volume all'interno del quale non dovrebbero stabilirsi eccessivi gradienti di temperatura e nella deposizione di energia. Per esposizioni a frequenze maggiori di 1 GHz diviene necessario descrivere la zona di integrazione in termini di un volume piatto costituito da pelle e tessuto sottocutaneo, fino allo spessore di penetrazione. Questa forma di valutazione permette una ragionevole transizione ai limiti di esposizione adottati per la radiazione infrarossa. Le tabb. I e II indicano, rispettivamente per gli individui professionalmente esposti e la popolazione nel suo insieme, i limiti di esposizione raccomandati dall'INIRC/IRPA per le m.

La limitazione a 200 mA della corrente che fluisce verso terra attraverso il corpo umano permette, inoltre, di evitare l'eccessivo riscaldamento dei polsi e delle caviglie che può verificarsi in particolari situazioni (Gandhi *et al.*, 1985; Gandhi, 1985; Guy e Chou, 1985). Sulla base dei dati attualmente disponibili, questa limitazione, unitamente ai limiti di esposizione, dovrebbe essere sufficiente a prevenire eccessive deposizioni di energia in qualsiasi parte del corpo.

**TAB. I. LIMITI DI ESPOSIZIONE PER LE MICROONDE RACCOMANDATI DALL'INIRC/IRPA PER I LAVORATORI**

| Intervallo di frequenza | Intensità di campo elettrico imperturbato (valore efficace) | Intensità di campo magnetico imperturbato (valore efficace) | Densità di potenza dell'onda piana equivalente | |
|---|---|---|---|---|
| f (MHz) | E (V/m) | H (A/m) | $P_{eq}$ (W/m²) | $P_{eq}$ (mW/cm²) |
| > 300-400 | 61 | 0,16 | 10 | 1 |
| > 400-2000 | $3f^{0,5}$ | $0{,}008f^{0,5}$ | f/40 | f/400 |
| > 2000-300.000 | 137 | 0,36 | 50 | 5 |

**TAB. II. LIMITI DI ESPOSIZIONE PER LE MICROONDE RACCOMANDATI DALL'INIRC/IRPA PER LA POPOLAZIONE**

| Intervallo di frequenza | Intensità di campo elettrico imperturbato (valore efficace) | Intensità di campo magnetico imperturbato (valore efficace) | Densità di potenza dell'onda piana equivalente | |
|---|---|---|---|---|
| f (MHz) | E (V/m) | H (A/m) | $P_{eq}$ (W/m²) | $P_{eq}$ (mW/cm²) |
| > 300-400 | 27,5 | 0,073 | 2 | 0,2 |
| > 400-2000 | $1{,}375f^{0,5}$ | $0{,}0037f^{0,5}$ | f/200 | f/2000 |
| > 2000-300.000 | 61 | 0,16 | 10 | 1 |



Digitized by Google

I limiti derivati raccomandati per l'esposizione della popolazione dovrebbero, inoltre, essere sufficienti a fornire una adeguata protezione nella maggior parte delle situazioni normalmente incontrate in pratica.

Molti effetti biologici osservati sembrano dipendere dai ratei di deposizione di energia. Per es., è stata dimostrata l'esistenza di relazioni tra l'energia assorbita e gli innalzamenti di temperatura. Queste relazioni dipendono dai meccanismi di termoregolazione e di adattamento nelle diverse condizioni ambientali, le quali modificano la relazione tra l'energia assorbita e il generalizzato innalzamento della temperatura corporea. Inoltre, la deposizione di energia non è uniforme e possono instaurarsi significativi gradienti localizzati di temperatura che rendono difficile la previsione di effetti. Per un indicatore biologico, quale il livello di catarattogenicità nell'occhio, è stata stabilita l'esistenza di una soglia durata di esposizione-intensità. Al di sopra di questa soglia è stata osservata una relazione dose totale-effetto.

La legislazione italiana è attualmente piuttosto lacunosa per quanto riguarda le norme di sicurezza da seguire nelle lavorazioni che comportino l'esposizione a radiazioni non ionizzanti, in particolare m. Mentre per le radiazioni ionizzanti esiste tutta una normativa relativa alle dosi massime ammissibili, per le radiazioni non ionizzanti mancano precisi riferimenti a livelli di esposizione validi per la radiazione a m.

Negli ultimi anni le m. sono state oggetto di numerosi studi volti ad analizzare le loro potenziali applicazioni in medicina, oltre l'utilizzo, classico, nelle tecniche di diatermia, essenzialmente la marconi- e la radarterapia (v. ELETTROTERAPIA). Questo studio, certamente legato al notevole progresso tecnologico che ha contraddistinto negli ultimi anni il settore dell'elettronica a m., ha, inoltre, ricevuto forte impulso dall'attuale tendenza a ricercare tecniche diagnostiche e terapeutiche alternative a quelle coinvolgenti l'uso di radiazioni ionizzanti. Recentemente si sono utilizzate le m. per ottenere mappe precise del contenuto acquoso dei polmoni, essendo l'acqua un forte assorbitore di questo tipo di radiazioni. Applicazioni molto interessanti sono state studiate anche nel campo della chirurgia di tessuti od organi cancerosi, in particolare per la resezione di fragili organi parenchimatosi. Un enorme impulso ha ricevuto, inoltre, la tecnica dell'ipertermia ottenuta con m., poiché i tessuti cancerosi sembrano essere meno resistenti all'azione di radiazioni ionizzanti (raggi X e γ) quando siano scaldati selettivamente da un fascio di m.

**Bibliografia**

American National Standards Institute, *American National Standards Safety Levels with Respect to Human Exposure to Radiofrequency Electromagnetic Fields, 300 kHz to 100 GHz*, 1982, IEEE, New York, N. Y. 10017, ANSI C95-1-1982.

Elder J. A., Cahill D. F., *Biological Effects of Radiofrequency Radiation*, 1984, United States Environmental Protection Agency. Research Triangle Park, NC; EPA-600/8-83/026F.

Franceschetti G., Gandhi O. P., Grandolfo M. eds., *Electromagnetic Biointeraction: Mechanisms, Safety Standards, Protection Guides*, 1989, Plenum Press, New York, London.

Gandhi O. P., *The ANSI RF Safety Guideline: its Rationale and Some of its Problems*, in Dutta S. K., Millis R. M. eds., *Biological Effects of Electropollution*, 1985, Information Ventures, Philadelphia, pp. 9-19.

Gandhi O. P., Chatterjee I., Wu D., Gu Y. G., *Proc. IEEE*, 1985, **73**, 1145-1147.

Guy A. W., Chou C. K., *Very Low Frequency Hazard Study (Final Report Prepared for the USAF School of Aerospace Medicine)*, 1985, Brooks AFB, TX. Contract F33615-83-C-0625; Available from USAF School of Aerospace Medicine.

IRPA/INIRC, *Guidelines on Limits of Exposure to Radiofrequency Electromagnetic Fields in the Frequency Range from 100 kHz to 300 GHz*, in *Health Physics*, 1988, **54**, 115-123. (Una traduzione italiana, a cura di Grandolfo M. e Raganella L., è disponibile come *Rapporto dell'Istituto Superiore di Sanità*, Istisan, Roma, 89/29).

National Council on Radiation Protection and Measurements, *Biological Effects and Exposure Criteria for Radiofrequency Electromagnetic Fields*, 1986, NCRP Report No. 86. p. 382, Bethesda, MD : NCRP.

MARTINO GRANDOLFO

## MICROSCOPIA ELETTRONICA [v. vol. IX, col. 1220]

SOMMARIO



### Introduzione

I principi teorici della microscopia elettronica in senso lato sono stati sviluppati attorno agli anni 1920-30. Derivano dall'ipotesi di De Broglie sulle onde associate agli elettroni, con relativa verifica sperimentale da parte di Davisson e Germer, dalla formulazione della meccanica ondulatoria da parte di Schrodinger e dalla scoperta della possibilità di costruire lenti magnetiche in grado di deviare gli elettroni.

L'interazione di un fascio di elettroni, o anche di altre particelle, con un campione, biologico e non, determina l'emissione di un notevole numero di segnali, la cui raccolta ed interpretazione permettono la formazione di immagini dell'oggetto sia interne che della sua superficie, così come conoscenze sulla composizione qualitativa e quantitativa e sulla distribuzione degli elementi nel campione stesso.

Nella fig. 1 è schematizzato il quadro complessivo dei segnali derivanti dalla interazione del raggio incidente con il campione e sono evidenziate le zone del campione da cui derivano i vari segnali. La efficienza globale del sistema, la risoluzione, la capacità di discriminare e di interpretare i segnali dipendono da vari fattori, come modalità di preparazione dei campioni e di osservazione, dispositivi microelettronici e computeristici collegati al microscopio vero e proprio, possibilità di analisi delle immagini.

In biologia e medicina, uno dei fattori più importanti è la preparazione del campione. Infatti, la fissazione e la disidratazione possono provocare modificazioni e dislocazioni tali da compromettere a priori ogni successiva osservazione ed analisi delle immagini.

Per quanto riguarda la strumentazione, invece, ed in particolare il grado di risoluzione e di controllo delle funzioni del microscopio, sono stati raggiunti ottimi livelli da parte di tutte le ditte produttrici di microscopi elettronici. Anche i dispositivi per analisi delle immagini hanno fatto grandi progressi negli ultimi anni, tuttavia, questo è un campo in continuo e rapido avanzamento e si può prevedere che offrirà ulteriori sviluppi anche nel settore biologico e medico.

### Microscopia elettronica a trasmissione

Il primo microscopio elettronico a trasmissione (TEM: *Transmission Electron Microscope*) funzionante risale al 1932-33 per opera di un gruppo di ingegneri, fra cui E. Ruska e M. Knoll; il primo microscopio elettronico commerciale è del 1939 e nasce dalla collaborazione dello stesso Ruska e von Borries con la Ditta Siemens-Halske di Berlino. Le prime osservazioni su materiale biologico risalgono a metà degli anni '30 e sono state accolte dal mondo scientifico con scetticismo sia per la scarsa risoluzione che per l'abbruciamento del campione stesso indotto dal fascio di elettroni.





Digitized by Google

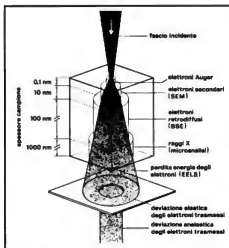



Fig. 1. Schema riassuntivo dei segnali derivati dalla interazione del fascio elettronico con il campione e dei livelli da cui provengono i vari segnali. (*Schema elaborato dalla Sig.na Elena Stanzani*).

Nel 1940, il medico Helmut Ruska, fratello di Ernest Ruska, ottenne un'immagine di batteriofago decisamente sensazionale e questo evento sancì la utilità del microscopio elettronico per lo studio del materiale biologico. Da allora, in seguito a miglioramenti progressivi della colonna elettronica, delle lenti elettromagnetiche e dei sistemi di preparazione dei campioni, questa tecnica è diventata indispensabile per gli studi biologici e medici, sia nel settore della ricerca che nella diagnostica.

Come già delineato nel capitolo analogo della II edizione (IX, 1221), il microscopio elettronico a trasmissione consta di un sistema di emissione di elettroni (filamento di tungsteno o di esaboruro di lantanio), i quali vengono accelerati sotto vuoto da un potenziale di 60-100 kV, di lenti elettromagnetiche che convergono il fascio sul campione, di una camera in cui inserire il campione da osservare e di una seconda serie di lenti elettromagnetiche e di diaframmi atti ad allargare, focalizzare e selezionare il fascio degli elettroni che formeranno l'immagine su uno schermo fluorescente. È molto importante che il fascio elettronico viaggi sotto vuoto spinto (dell'ordine di $10^{-5}$ Torr); negli apparecchi moderni sono inserite pompe a vari livelli per potere mantenere costante l'alto vuoto. In generale, al di sotto dello schermo fluorescente, è sistemata una camera fotografica o un sistema di ripresa su lastre o dispositivi a fibre ottiche per il trasferimento dell'immagine fuori dalla colonna del microscopio. I moderni apparecchi sono predisposti per l'inserimento di una camera da ripresa televisiva attraverso la quale l'immagine può venire trasferita a un sistema di analisi dell'immagine o semplicemente immagazzinata per studi successivi. Nella fig. 2 è illustrato un moderno microscopio elettronico.

Come è schematizzato nella fig. 1, l'immagine al TEM è ottenuta dalla raccolta su uno schermo fluorescente degli elettroni che sono riusciti ad attraversare il campione, generalmente una sezione ultrasottile di tessuto dell'ordine di 30-80 nm, precedentemente fissato ed incluso in apposite resine sintetiche. A dire il vero, l'immagine, ed in particolare la sua definizione e contrasto, sono dati dalla sottrazione, tramite un diaframma, degli elettroni del fascio deviati con alto angolo dagli elementi costitutivi del campione, rispetto a quelli che lo hanno attraversato e che illuminano lo schermo.

La risoluzione ottenibile con gli strumenti oggi sul mercato è dell'ordine di 0,1-0,2 nm: distanze atomiche, che non sono molto interessanti in biologia ove, invece, è importante studiare le molecole e le interazioni fra molecole e fra complessi molecolari. Pertanto, per lo studio del materiale biologico, la risoluzione degli strumenti oggi sul mercato è sempre ottimale rispetto alle necessità.

Nella realtà, la risoluzione finale per preparati biologici è fortemente ridotta dalle tecniche preparative dei campioni e dal fatto che parte degli elettroni interagendo con gli atomi a basso peso molecolare costitutivi del materiale biologico (in prevalenza carbonio, ossigeno, azoto) vengono deviati anelasticamente e contribuiscono a formare sullo schermo una immagine confusa. Inoltre, nell'esame di preparati biologici al TEM non è da trascurare il danno indotto dall'effetto ionizzante degli elettroni. Questi danni possono essere elencati come rottura di ponti intermolecolari, spostamenti di ioni (particolarmente importanti nella microanalisi), reazioni chimiche non controllate, perdita di materiale e dell'eventuale ordine cristallino del campione. Inoltre, le particelle che vengono continuamente rimosse dal campione tendono a riprecipitarvi determinandone un deterioramento irreversibile (contaminazione).

Per ovviare a questi inconvenienti, sono stati messi a punto vari sistemi: raffreddare il campione e la camera porta-campione con azoto liquido e migliorare il vuoto della colonna al fine di diminuire gli effetti di contaminazione; operare a basse dosi di elettroni al fine di diminuire il danno sia diretto che indiretto da radiazioni; esporre la zona interessata per tempi brevissimi, migliorare la efficienza e la velocità dei sistemi di raccolta delle immagini (sia sistemi fotografici che di registrazione).

Come già accennato, oltre al danno provocato dagli elettroni che attraversano il campione, il materiale biologico non è direttamente osservabile al microscopio elettronico,

Fig. 2. Microscopio elettronico a trasmissione Philips CM 20.





Digitized by Google

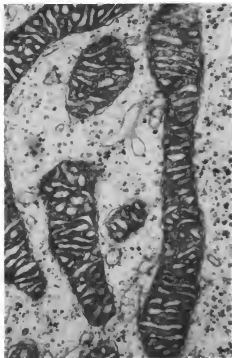



Fig. 3. Mitocondri di un miofibroblasto di cuore di embrione di pollo coltivato *in vitro*. Il materiale è stato fissato, disidratato ed incluso in modo convenzionale. Le sezioni ultrasottili sono state colorate con acetato di uranile e citrato di piombo ed osservate in un microscopio elettronico Siemens 1A. Il campione è visto ingrandito 36.000 volte.

ma deve essere opportunamente trattato al fine di stabilizzarne la struttura (*fissazione*), renderlo meno danneggiabile dalla disidratazione spinta che subisce nella colonna del microscopio, poterlo tagliare in sezioni di 30-80 nm atte ad essere attraversate dal fascio elettronico (*inclusione* e *sezionamento*); infine, prima dell'osservazione, il campione deve essere trattato con sali di elementi ad alto numero atomico in grado di legarsi in modo più o meno specifico a gruppi chimici del preparato e in grado di deviare gli elettroni, conferendo, pertanto, dettagli e contrasto all'immagine (*colorazione*) (cfr. fig. 1).

Una trattazione delle metodiche di allestimento dei campioni biologici per l'esame al microscopio elettronico a trasmissione sarebbe troppo lunga e si rimanda a pubblicazioni e trattati specializzati (Glauert A. M., 1974-80). È opportuno solo ricordare che le procedure convenzionali adottate in tutti i laboratori constano di una fissazione del materiale in aldeidi e tetrossido di osmio in un mezzo isotonico a pH neutro, seguita da disidratazione con alcol o acetone e da inclusione in resine epossidiche. Le sezioni, ottenute mediante ultramicrotomi, raccolte su griglie di rame o altro metallo, vengono impregnate con sali di uranile e di piombo, introdotte nella camera porta-campioni del microscopio ed osservate. Con tale metodica si ottengono immagini convenzionali, ormai da tutti accettate, che probabilmente non rappresentano la reale organizzazione strutturale dei complessi molecolari biologici, ma che offrono quadri ripetitivi, di facile lettura.

La fig. 3 illustra mitocondri di miofibroblasto coltivati *in vitro* come appaiono secondo questa tecnica preparativa: si osservano chiaramente le due membrane mitocondriali, interna ed esterna, le invaginazioni della membrana interna a formare le criste, la matrice granulare; a forte ingrandimento le membrane sono risolvibili nei due foglietti periferici elettronopachi separati dallo strato idrofobico centrale.

I moderni microscopi elettronici permettono ingrandimenti da 500 a 500.000 volte delle strutture in esame. Agli ingrandimenti minori, possono essere osservati gruppi di poche cellule e le loro relazioni reciproche, agli ingrandimenti maggiori, ed in seguito a particolari tecniche preparative, si possono visualizzare direttamente molecole di in-

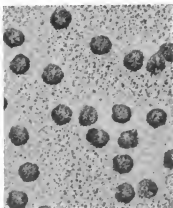
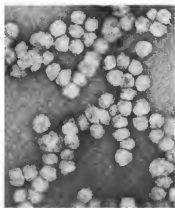



Fig. 4. Lipoproteine LDL (*Low Density Lipoprotein*) da plasma umano normale. Lo stesso campione è stato osservato al microscopio elettronico a trasmissione secondo due tecniche preparative diverse. *A sinistra*: le particelle lipoproteiche sono state «colorate negativamente», cioè immerse in una soluzione di acetato di uranile che ne mette in rilievo la forma e le dimensioni. *A destra*: le particelle sono state ombreggiate con platino/carbone, fatto evaporare sotto vuoto da un angolo di 9 gradi. In quest'ultimo caso, sono più evidenti le strutture di superficie. I campioni sono visti ingranditi 280.000 volte.





Digitized by Google

teresse biologico, come DNA, proteine, lipidi (Sommerville e Scheer, 1987).

La fig. 4, *a sinistra*, riporta l'immagine di lipoproteine umane LDL osservate al TEM dopo colorazione negativa con acetato di uranile su griglia ricoperta di formvar e carbone, mentre la fig. 4, *a destra*, è l'immagine della stessa frazione lipoproteica osservata al TEM dopo essere stata ricoperta da uno strato di circa 5 nm di platino/carbone, secondo la tecnica dell'ombreggiatura rotante.

**Microscopia elettronica a trasmissione ad alto voltaggio**

Il funzionamento del microscopio elettronico a trasmissione ad alto voltaggio (HVEM) ricalca quello del TEM convenzionale, solo che il potenziale di accelerazione degli elettroni è molto elevato, superiore a 300 kV. I primi microscopi ad alto voltaggio, costruiti attorno al 1960-70 operavano a 2000-3000 kV, erano enormi ed occupavano in verticale due piani di un normale edificio. Successivamente, è stato osservato che la risoluzione non aumenta con l'aumento del voltaggio, e che il voltaggio ottimale, specie per campioni biologici, si aggira sui 200-300 kV. Il vantaggio principale dell'uso di un voltaggio elevato consiste nella possibilità di esaminare campioni spessi (micron), con buona risoluzione e, tramite immagini scattate con diversa inclinazione del preparato, di ottenere un'immagine tridimensionale di tutto il campione in esame. È stato utilizzato per la osservazione della organizzazione interna di cellule intere, di spermatozoi e di altri oggetti spessi. In virtù dell'alto potere di penetrazione del fascio elettronico, è stata tentata la osservazione di campioni biologici non disidratati, ma mantenuti in una camera umida. Tuttavia, dopo i primi entusiasmi degli anni '70, tale impiego è stato abbandonato in quanto la risoluzione risulta molto scadente ed il danno da irraggiamento del campione eccessivo. In generale, il microscopio ad alto voltaggio, dato l'elevato costo in rapporto al tipo di informazioni fornite, al momento non ha in biologia e medicina l'impiego che si poteva prevedere una decina di anni orsono.

**Microscopia elettronica a scansione**

Come nel caso del microscopio elettronico a trasmissione, anche quello a scansione (SEM: *Scanning Electron Microscope*) è stato sviluppato prevalentemente per studio di campioni non biologici ed in particolare di dispositivi microelettronici.

Il fascio elettronico primario viene focalizzato da un sistema di lenti magnetiche sulla superficie del campione resa «riflettente» tramite la deposizione sotto vuoto di uno strato di alcuni nanometri di spessore di platino/carbone o di altri elementi conducenti. Un sistema di deflessione del fascio fa sì che questo esplori la superficie dell'oggetto punto per punto, mentre un sistema rivelatore raccoglie il fascio elettronico secondario che origina nelle immediate vicinanze della superficie del campione (cfr. fig. 1). Tale fascio viene usato per modulare la intensità di un pennello di elettroni fatto scorrere in sincronia sullo schermo di un tubo a raggi catodici. Su uno schermo televisivo, pertanto, si ha la formazione di un'immagine punto per punto della superficie del campione in esame. La velocità della scansione, in rapporto alla capacità di formazione e ritenzione dell'immagine dell'occhio umano, fa sì che sullo schermo si possano vedere immagini definite della superficie degli oggetti in esame.

La risoluzione dipende dal diametro della sonda elettronica, dal campione ed è condizionata dalle aberrazioni (sferica, cromatica e di diffrazione) delle lenti magnetiche. La efficienza di tutto il sistema dipende anche dalla fonte di elettroni primari e dalla loro accelerazione, dal vuoto della

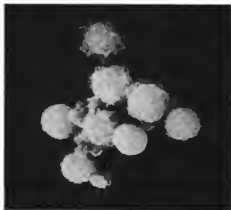



Fig. 5. Linfociti umani normali da sangue periferico. I linfociti sono stati fissati chimicamente, disidratati secondo la tecnica del *critical point dryer*, ombreggiati con platino e carbone ed osservati al microscopio elettronico a scansione (SEM), che ne mette bene in evidenza forma, dimensioni e caratteristiche di superficie. Le cellule sono viste ingrandite 2500 volte.

colonna, oltre che dalla sensibilità degli elaboratori dei segnali. Nei moderni microscopi elettronici a scansione si raggiungono risoluzioni dell'ordine del nanometro.

Per lo studio al SEM di materiale biologico è molto importante l'allestimento del campione; particolari tecniche di fissazione e di disidratazione dei campioni (come la disidratazione al punto critico), prima della loro copertura con metalli conducenti, permettono una buona conservazione delle superfici in esame. Risultati molto interessanti sono stati ottenuti su organismi complessi come insetti e pollini, su cellule procariote ed eucariote isolate o coltivate, nello studio delle particolarità delle membrane plasmatiche, delle relazioni fra cellule e fra queste e la matrice extracellulare. La fig. 5 è un'immagine al SEM di linfociti normali da sangue periferico umano.

L'applicazione di sonde per raccogliere i raggi X o altri segnali (cfr. fig. 1) permette, inoltre, di avere informazioni analitiche sullo stesso campione.

**Microscopia elettronica a scansione/trasmissione**

Anche la m. e. a scansione/trasmissione (STEM: *Scanning Transmission Electron Microscopy*) è stata sviluppata prevalentemente per lo studio dei materiali ed ha trovato successivamente applicazioni in biologia e medicina. Il vantaggio maggiore rispetto al TEM consiste nella possibilità di raccogliere i segnali derivanti dalle deviazioni sia elastiche che anelastiche degli elettroni e di combinarli in immagini ad alta risoluzione ed alto contrasto. Questo tipo di strumento lavora con un pennello elettronico molto piccolo, e si è rivelato particolarmente utile per microanalisi, su scala molto fine, mediante l'analisi sia dello spettro di perdita di energia elettronica (EELS) che della emissione di radiazione X (EDXS) (v. sotto, *microscopia elettronica analitica*). Il microscopio elettronico STEM è stato ed è molto utilizzato nello studio dei materiali, mentre per i preparati biologici si è rivelato finora di scarso interesse, prevalentemente per le difficoltà preparative dei campioni.



Digitized by Google

**Microscopia elettronica ad effetto tunnel**

Lo *Scanning Tunneling Microscope* (STM), o microscopio elettronico a scansione ad effetto tunnel, si basa sulla registrazione del flusso di elettroni fra una superficie conducente ed un rivelatore a punta. Gli ideatori di questo sistema di indagine submicroscopica, Binning e Rohr, hanno ricevuto il premio Nobel nel 1986. (Per la microscopia ottica ad effetto tunnel, v. MICROSCOPIA E MICROSCOPIO*; LASER*).

La punta del rivelatore, sottile a livello atomico, viene fatta scorrere sulla superficie dell'oggetto a distanza di frazioni di nanometro (fig. 6); la punta ed il campione vengono mantenuti alla stessa distanza e portati ad una opportuna differenza di potenziale; se la punta è sufficientemente vicina al campione, un certo numero di elettroni passa dal campione alla punta per effetto tunnel. Il coefficiente di trasmissione degli elettroni dipende dalla distanza della punta dalla superficie del campione e, facendo scorrere la punta sul campione, la corrente di elettroni aumenta quando la punta si viene a trovare in corrispondenza di una sporgenza sulla superficie del campione e, viceversa, diminuisce se incontra un avvallamento. Tali differenze di corrente di elettroni, opportunamente rilevate ed elaborate forniscono una mappa topografica della superficie esaminata. In realtà i dispositivi di misura sono costruiti in modo tale che la corrente di elettroni fra punta e superficie viene mantenuta costante tramite spostamenti verticali della punta. Si ha così un rilevamento diretto delle scabrosità della superficie e della sua topografia. Queste prime informazioni, opportunamente elaborate, permettono la ricostruzione tridimensionale della superficie esaminata. La risoluzione laterale dipende dal raggio di curvatura della punta e dalla distanza fra punta e campione ed è dell'ordine di 0,5 nm; quella verticale è ancora minore. Con apparecchi molto sofisticati e per materiali particolari si può arrivare a risoluzioni inferiori a 0,1 nm. Le strumentazioni in commercio arrivano facilmente a risoluzioni sia laterali che verticali di 1 nm.

La velocità di scansione e, pertanto, la qualità delle immagini ottenibili col microscopio elettronico ad effetto tunnel sono state recentemente molto migliorate mediante la introduzione di dispositivi che rendono più stabile ed affidabile il sistema; tuttavia, specialmente per campioni biologici, i risultati possono ancora essere migliorati.

Fig. 6. Schema sul sistema di funzionamento del microscopio *tunneling*. Un rivelatore a punta scorre sulla superficie di un oggetto e ne mette in rilievo la topografia tridimensionale tramite un sistema rivelatore deputato a registrare le variazioni di corrente fra punta e superficie. (*Dr. G. Mori*).

L'applicazione a materiale biologico di questa metodica è abbastanza recente. Una delle limitazioni più importanti nell'uso del microscopio elettronico ad effetto tunnel per lo studio di materiale biologico è la scarsa conducibilità elettrica di quest'ultimo. Infatti, qualora substrato e campione siano buoni conduttori, il pennello di scansione mantiene una distanza costante dalla superficie scandita, ed i particolari di quest'ultima sono risolti a livello atomico; ma se il campione è un cattivo conduttore, come nel caso del materiale biologico, la punta si avvicina al campione per mantenere costante la corrente e ne può risultare una deformazione del campione, o del substrato o del pennello stesso, con falsa lettura dei rilievi di superficie.

La conduttività del campione può essere aumentata mediante copertura, per evaporazione, con un film di palladio/oro, come viene fatto per la osservazione in m. e. a scansione; tuttavia, tale procedimento porta al mascheramento dei dettagli di superficie e a manipolazioni preparative che tolgono validità alla metodica *tunneling*, che è appunto quella di potere osservare superfici di oggetti biologici nel loro stato nativo.

Una serie di altre limitazioni, inerenti la organizzazione strutturale del materiale biologico, hanno reso finora meno eclatanti i risultati nel settore biologico rispetto al settore dei materiali. Fra queste, la scarsa ripetitività e la diluizione delle strutture rilevabili in un campione biologico, che rendono necessario l'esame di larghe superfici. Recentemente è stato messo a punto un microscopio ad effetto tunnel, chiamato *Bioscope*, in cui si è tenuto conto di alcune di queste limitazioni, mediante ampliamento dell'area osservabile e aumento della stabilità del preparato.

Il microscopio elettronico a scansione ad effetto tunnel è stato studiato e messo a punto per osservazioni in ambiente sotto vuoto spinto. Recentemente, tuttavia, è stato visto che il vuoto non è necessario, e che si possono effettuare osservazioni lavorando in aria, in olio ed in ambiente acquoso. La possibilità pertanto di studiare le caratteristiche di superficie di campioni spessi in condizioni fisiologiche, cioè in soluzioni di elettroliti, ha prospettato interessanti applicazioni di questa metodica in campo biologico (Sonnenfeld e Hansma, 1986). Da tenere presente, inoltre, che lavorare mantenendo il materiale in condizioni fisiologiche può permettere studi dinamici e la osservazione diretta delle modificazioni del campione sottoposto a reazioni o stimoli particolari.

Negli ultimi anni sono state pubblicate, su qualificate riviste internazionali, numerose osservazioni di strutture biologiche complesse, come virus, DNA, collagene, membrane artificiali (Baro *et al.*, 1985; Voelker *et al.*, 1988; Beebe *et al.*, 1989; Mantovani *et al.*, 1990) studiati in condizioni native. La tecnica però è appena agli inizi e, specialmente per campioni biologici, fornisce ancora immagini difficili da interpretare e, talvolta, molto meno risolte di quelle ottenibili, ad es., mediante m. e. tradizionale.

Una variante del microscopio a scansione ad effetto tunnel è il cosiddetto AFM (*Atomic Force Microscope*), un misuratore di profili a risoluzione atomica, che registra la deflessione di una punta di diamante o tungsteno fatta passare sulla superficie di oggetti non conducenti. Questo rende il sistema più flessibile e, forse, utilizzabile per materiale biologico nativo.

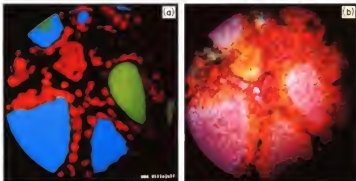
**Microscopia ionica analitica**

La microscopia ionica analitica (SIMS: *Secondary Ion Mass Spectrometry*) può essere ritenuta una microscopia a scansione di tipo analitico, che offre contemporaneamente la immagine del campione e la distribuzione di particolari ioni al suo interno.





Digitized by Google

Fig. 7. Tiroide di ratto. Distribuzione degli elementi ottenuta tramite superimposizione di immagini singole, in cui ai singoli elementi è stato attribuito un colore fittizio. (*a*) $^{31}P$ rosso; $^{127}I$ verde; $^{129}I$ blu. (*b*) $^{26}CN$ rosso; $^{2}H$ verde; $^{32}S$ blu. (*Da Olivo et al., J. Microscopy, 1989*).

Il campione viene colpito con un raggio di ioni di varia natura a seconda del tipo di elementi che si intendono riconoscere e localizzare. Ad es., nel microscopio ionico analitico CAMECA IMS 3F il fascio primario è costituito da ioni di ossigeno o di cesio a seconda che si vogliano mettere in evidenza ioni secondari positivi o negativi rispettivamente. Gli ioni secondari emessi dal campione, opportunamente raccolti ed elaborati, possono anche offrire una distribuzione tridimensionale degli elementi allo studio (Brown, 1988).

Il vantaggio del microscopio analitico ionico, rispetto all'elettronico, è di dare un'immagine diretta della distribuzione di ioni in una sezione di tessuto anche quando questi sono a bassa concentrazione, e di permettere il riconoscimento di tutti gli elementi della tavola periodica, compresi gli isotopi. Le prestazioni dello strumento sono direttamente connesse allo sviluppo della tecnologia computeristica, alla disponibilità di videocamere ad alta sensibilità ed, inoltre, i segnali devono essere decodificati utilizzando sofisticate tecniche di analisi delle immagini. Utilizzando uno strumento corredato allo scopo, Olivo *et al.*, (1989) hanno ottenuto immagini molto definite sulla distribuzione di vari ioni, compresi gli isotopi 127 e 129 dello iodio, nella ghiandola tiroidea (fig. 7).

**Microscopia elettronica analitica**

Per m. e. analitica si intendono la raccolta e l'analisi di segnali, emessi dal campione colpito da un fascio elettronico, che diano informazioni sulla qualità e, possibilmente, sulla quantità e localizzazione di determinati elementi costitutivi del campione stesso (per una trattazione dettagliata, consultare Maher *et al.* 1979). Questi segnali sono di varia natura. I più usati in biologia sono i raggi X emessi dagli atomi colpiti (EDXS = *Energy Dispersive X-ray Spectrometry*), e, almeno dal punto di vista teorico, la perdita di energia degli elettroni incidenti all'attraversamento del campione (EELS = *Electron Energy Loss Spectrometry*). La produzione di raggi X è dovuta al riempimento delle orbite inferiori, lasciate libere dall'elettrone espulso, da parte di elettroni di orbite più esterne dell'atomo. La frequenza dei raggi X prodotta è caratteristica dell'elemento e può pertanto essere utilizzata per il suo riconoscimento. La spettroscopia elettronica a perdita di energia consta, invece, nella misurazione della quantità di energia perduta dagli elettroni primari durante la interazione con gli atomi del campione. Le informazioni ottenibili con le due metodologie sono, in un certo senso, complementari.

Nella fig. 1 (col. 5077) è schematizzato il volume del campione dal quale vengono emessi raggi X, qualora colpito da un fascio di elettroni. Nella stessa figura è rappresentato come la misura della perdita di energia degli elettroni durante l'attraversamento del campione dia informazioni sulla natura degli elementi colpiti (EELS). In ambedue i casi, ma specialmente per l'EELS, è necessario che il campione sia molto sottile, in quanto gli elettroni dovrebbero uscire dal campione dopo una sola ionizzazione e non andare incontro a perdite successive di energia per diffusioni multiple. È stato calcolato che per campioni biologici lo spessore dovrebbe essere inferiore a 30-40 nm.

L'EDXS è particolarmente adatta allo studio di elementi di elevato numero atomico, mentre l'EELS permette di saggiare elementi leggeri, specie quelli che di solito non sono rilevabili con l'EDXS ($Z \leq 11$). Sono tecniche analitiche in rapido progresso e direttamente associate allo sviluppo della strumentazione di registrazione dei segnali. Sono in atto tentativi di combinare i segnali EDXS e EELS provenienti da una stessa sorgente al fine di potere ottenere un'analisi completa dello spettro degli elementi con una elevata MMD (*Minimum Mass Detectable* = *Minimum Mass Analysed* × *Minimum Mass Fraction*). Si può valutare che la dose minima di un elemento rilevabile in un campione biologico sia dell'ordine di $10^{-23}$ g.

Uno dei problemi maggiori per la microanalisi su campioni biologici è la conservazione degli elementi nel loro sito naturale. Tutte le metodiche convenzionali di allestimento dei preparati biologici comportano trattamenti con soluzioni acquose, e non, che possono dislocare o estrarre elementi di interesse biologico dalle strutture in esame. Sono state sviluppate tecniche di trattamento di campioni tali da preservare al massimo la localizzazione e la quantità degli elementi di interesse fisiologico, come Na, K, Ca, Mg, P, S, Cl, tramite congelamento ultrarapido in azoto o elio liquido e liofilizzazione o osservazione in condizioni di congelamento.

**Crioultramicroscopia**

È stato osservato che la migliore preservazione del campione per studi strutturali, ma specialmente per studi microanalitici, si ottiene tramite il suo congelamento ultrarapido (criofissazione), sezionamento (quando il materiale lo richiede) e osservazione a temperature inferiori a −70 °C.





Digitized by Google

La criofissazione viene ottenuta tramite congelamento di piccoli frammenti di tessuto per immersione in azoto o elio liquido. La metodica è abbastanza semplice, ma si è subito osservato che il congelamento non è mai tanto rapido da evitare la formazione di cristalli di ghiaccio, i quali danneggiano irrimediabilmente le strutture cellulari. Sono stati messi a punto metodi sia per impedire la formazione ed il danno da cristalli di ghiaccio, impregnando il campione con soluzioni di glicerolo o di dimetilsolfossido, sia per diminuire il tempo di raffreddamento delle zone interne del preparato, mediante immersione in freon o propano e etano liquidi (Ryan *et al.*, 1990) prima della immersione in azoto liquido, o mediante schiacciamento del campione tra superfici di rame o di altri metalli conduttori tenute a temperature inferiori a −100 °C.

Una volta congelato in modo ottimale, il preparato può essere tagliato mediante un crioultramicrotomo in sezioni dell'ordine di 50-80 nm, colorato ed osservato al TEM, oppure può essere osservato ancora congelato, previo il suo trasferimento in una camera porta-campioni, raffreddata ad azoto liquido. Per microanalisi a raggi X, e al fine di preservare la localizzazione degli ioni, le sezioni congelate possono essere direttamente essiccate ed osservate in un microscopio analitico.

Un altro sistema che ha dato e continua a dare preziose informazioni sulla struttura delle membrane biologiche è quello della *criofrattura* (*freeze-etching*). Il frammento di tessuto congelato viene fratturato sotto vuoto e sulla superficie di frattura viene depositato, secondo un angolo prestabilito, uno strato di platino/carbone e, successivamente, uno strato di carbone di supporto. Il materiale biologico viene poi digerito con varecchina e la replica della superficie di frattura osservata al microscopio. Si ottengono in questo modo immagini in rilievo delle scabrosità della superficie casuale di frattura. Come accennato, il sistema si è rivelato particolarmente utile per lo studio delle membrane biologiche, in quanto il piano di frattura corre lungo le linee di minore resistenza e, pertanto, lungo gli spazi idrofobici intramembrana.

La fig. 8 illustra una cellula epatica di ratto sottoposta a criofrattura; si osservi in particolare la membrana nucleare con i caratteristici pori e le particelle intramembrana, espressione delle molecole proteiche che attraversano il doppio strato lipidico della membrana stessa. Nel citoplasma sono riconoscibili vescicole del reticolo endoplasmico e dell'apparato del Golgi e mitocondri.

Fig. 8. Epatocita di ratto. Il preparato è stato fissato, imbevuto in glicerolo, congelato rapidamente in freon 22 ed azoto liquido, fratturato sotto vuoto; la superficie di frattura, ombreggiata con platino/carbone, è stata osservata in un microscopio elettronico a trasmissione Siemens 1A. Si vedono bene le membrane del nucleo, con i pori nucleari e le particelle intramembrana. Il campione è stato ingrandito 64.000 volte.

### Citochimica ed immunocitochimica ultrastrutturale

La m. e., sia a trasmissione che a scansione, ha ricevuto ulteriore impulso negli ultimi anni dalla applicazione di tecniche citochimiche ed immunologiche per il riconoscimento e la localizzazione di molecole di interesse biologico su strutture, magari già ampiamente osservate e descritte dal semplice punto di vista morfologico. Il principio, le metodologie, i problemi interpretativi sono in gran parte gli stessi di quelli che si incontrano nelle applicazioni istochimiche ed immunoistochimiche in microscopia ottica. Nella indagine citochimica vengono sfruttate le reattività caratteristiche di certe molecole biologiche per composti chimici riconoscibili al microscopio elettronico o reazioni enzimatiche il cui prodotto è opaco agli elettroni (Hayat, 1973; 1977; Bullock e Petrusz, 1982). Tipico esempio del primo caso è quello dei glicosaminoglicani. Queste sono molecole costituite da polimeri di ac. glicuronico o iduronico con glicosamina o galattosamina, variamente acetilate e solforate; tali polimeri sono legati a una proteina e quest'ultima ad ac. ialuronico. Il tutto costituisce un enorme complesso molecolare, fortemente idratato, nell'ambiente extracellulare che media le relazioni chimiche e fisiche fra le varie componenti cellulari, e non, del connettivo e di questo con gli epiteli. Il peso di tali molecole è superiore a $10^6$, tuttavia, data la scarsa densità, non sono direttamente visibili al microscopio elettronico. È stato trovato che tali molecole sono in grado di legare rosso rutenio, blu di toluidina, blu di cuprolinio, alcian blu in modo abbastanza selettivo in rapporto alla concentrazione salina del mezzo e che il prodotto della reazione è opaco agli elettroni. L'aggiunta di tali coloranti al mezzo di fissazione rende, pertanto, visibili al TEM i glicosaminoglicani, ed offre la possibilità di studiarne la localizzazione ed i rapporti con le altre componenti del tessuto (fig. 9) (Baccarani Contri *et al.*, 1985; Scott, 1988).

Nella *immunoelettronmicroscopia* vengono invece sfruttate la capacità di un anticorpo (anticorpo primario) di legarsi in modo abbastanza stabile con l'epitopo dell'antigene specifico e la possibilità di rivelare il sito della reazione mediante un anti-anticorpo (anticorpo secondario) marcato con ferritina, particelle di oro colloidale, o altri rivelatori opachi agli elettroni (fig. 10). Anche in questo caso, una completa trattazione del problema, delle metodiche adottabili a seconda di cosa si vuole localizzare, delle difficoltà interpretative, richiederebbe troppo spazio e si rimanda a trattati specializzati (Pollack e Varndell, 1984).





Digitized by Google

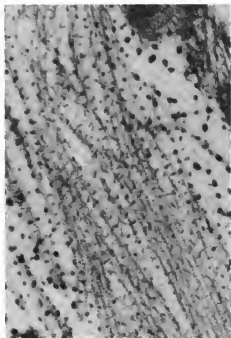



Fig. 9. Tonaca media di aorta di pulcino. Il materiale è stato fissato in presenza di rosso rutenio, un marcatore chimico per i proteoglicani, disidratato ed incluso in resine epossidiche. Le sezioni ultrasottili sono state colorate con acetato di uranile e citrato di piombo ed osservate in un microscopio elettronico Philips 400T. I granuli elettronopachi ramificati associati alle fibrille collagene rappresentano i proteoglicani. Il campione è stato ingrandito 52.000 volte. (*Da Baccarani Contri et al., 1985*).

Fig. 10. Schema di immunolocalizzazione al microscopio elettronico. Una molecola antigenica associata ad una struttura biologica viene fatta reagire con l'anticorpo specifico; il sito della reazione viene evidenziato tramite un marcatore (oro colloidale o altro sistema), che può essere: 1) coniugato direttamente all'anticorpo primario; 2) coniugato ad un anti-anticorpo; 3) reso più evidente tramite ipermarcatura. (*Originale Dr. G. Mori*).

Fig. 11. Cute umana normale. Il materiale è stato trattato secondo le procedure convenzionali per la osservazione in m. e. a trasmissione. Le sezioni ultrasottili sono state fatte reagire con un anticorpo anti-elastina e, successivamente, con un anti-anticorpo coniugato con particelle di oro colloidale. Nella micrografia sono rappresentati fasci di fibrille collagene ed una fibra elastica del derma. Come atteso, la sola fibra elastica è punteggiata di particelle di oro colloidale. Il campione è stato ingrandito 36.000 volte.

Idealmente le varie procedure tendono alla massima preservazione della ultrastruttura del campione, unitamente alla massima preservazione delle caratteristiche antigeniche delle molecole allo studio. La prima condizione rende indispensabile una fissazione chimica del materiale biologico, fissazione che, in molti casi, modifica o distrugge le caratteristiche dell'antigene; pertanto, nella pratica, vengono adottate procedure di compromesso fra conservazione della ultrastruttura e della immunoreattività del materiale allo studio. Il problema della conservazione della struttura dell'oggetto è comune alla indagine di immunolocalizzazione sia ottica che elettronica, tuttavia, in questo secondo caso, data la risoluzione cui si può arrivare, è indispensabile adottare precauzioni non necessarie nella immunolocalizzazione ottica. Ovviamente, come per indagini analoghe in microscopia ottica, è indispensabile che gli anticorpi primari utilizzati siano altamente specifici.

La fig. 11 mostra il tipo di immagine che si ottiene applicando la metodica della immunoreazione su sezione ultrasottile e la sua visualizzazione tramite un anti-anticorpo marcato con oro colloidale. Le particelle di oro colloidale, opache agli elettroni, segnalano il sito della reazione dell'antigene tessutale con l'anticorpo



Digitized by Google

specifico; in questo caso l'antigene tessutale è la molecola della elastica, che è il maggiore costituente delle fibre elastiche della cute, dell'aorta, dei polmoni e di altri tessuti connettivi. La reazione immunocitochimica mostra chiaramente che la elastina è localizzata solamente sulla lunga fibra elastica che attraversa l'immagine dall'alto al basso.

**Analisi delle immagini**

La microscopia sia ottica che elettronica fornisce immagini a due dimensioni di oggetti a tre dimensioni. Nella maggioranza dei casi, inoltre, i campioni sono troppo spessi per essere osservati direttamente al microscopio. Si deve procedere, pertanto, al loro sezionamento ed alla osservazione delle strutture casualmente coinvolte dai piani di sezione. Nel caso delle sezioni da osservare al microscopio ottico, lo spessore si aggira normalmente sui 5 μm, nel caso dei campioni sezionati per m. e., lo spessore delle sezioni è dell'ordine di 50-80 nm. In tutti i casi, pertanto, si perde la informazione spaziale, e l'immagine che si ottiene dipende primariamente dalla forma della struttura in esame e dal suo orientamento rispetto al piano di sezionamento. Sono stati elaborati una serie di sistemi, alcuni empirici, altri derivati da applicazioni matematiche, per una ricostruzione tridimensionale delle strutture e, più ancora, per una loro valutazione quantitativa relativa o assoluta.

Uno dei primi approcci è stato quello di ricostruire l'oggetto tramite *sezioni seriali*. Tale metodo è stato applicato, con notevoli risultati, allo studio di strutture particolarmente complesse, come l'evoluzione dell'embrione durante lo sviluppo. Il sistema delle sezioni seriali è tuttavia lungo e laborioso e non sempre necessario.

Fin dal secolo scorso i microscopisti si sono posti il problema di quantizzare le strutture osservate al microscopio ed hanno proceduto alla misura di volume e superfici con sistemi empirici ed intuitivi, tipo quello di ritagliare sagome di carta relative alle varie strutture del campo ottico e procedere per pesata alla loro quantizzazione. Da una trentina d'anni, la stretta collaborazione di ricercatori microscopisti e matematici ha portato alla formulazione delle basi matematiche dei metodi stereologici ed alla fondazione nel 1963 della International Society for Stereology. La definizione originale di *stereologia* è quella fornita da Weibel e Elias nel 1967: «un insieme di metodi matematici che mettono in relazione parametri definenti strutture tridimensionali a misure ottenibili da sezioni a due dimensioni».

Il presupposto generale è che l'immagine della struttura da misurare non venga selezionata, ma sia casuale. Sono stati elaborati sistemi matematici complessi adattati alle situazioni più diverse, basati sulla geometria probabilistica.

Il principio di base, tuttavia, era già stato formulato alla fine del 1700 da Jean Louis Leclerc, Compte de Buffon, il quale dimostrò che la probabilità che un ago, lasciato cadere su una griglia, aveva di incontrare le maglie della griglia erano direttamente proporzionali alla lunghezza dell'ago (L), inversamente proporzionali alla larghezza (D) delle maglie della griglia, e dipendevano dall'integrale di tutti gli angoli possibili che l'ago poteva assumere, valutato $2/\pi$.

$$P = (2/\pi) \times (L/D).$$

Ne deriva che, sovrapponendo ad una immagine un reticolo a linee parallele distanti (D), la probabilità che un segmento di lunghezza incognita (Ls) incroci dette linee è proporzionale al numero delle intersezioni reali contate (Nc), diviso per il numero totale delle possibili intersezioni (Nt); pertanto, la lunghezza del segmento (Ls) incognito può essere definita da $Ls = (\pi/2) \times D \times Nc/Nt$ e la lunghezza totale ($Ls \times Nt$) della linea incognita è definita da $Lt = (\pi/2) \times D \times Nc$.

È stata elaborata una serie di formule matematiche atta a risolvere i problemi più difficili di lunghezza, superficie, volume a seconda della forma, dimensione, diluizione della struttura allo studio. Per una visione completa è opportuno consultare lavori originali e trattati specifici (Weibel, 1979; 1980). Uno degli aspetti più importanti nelle analisi stereologiche è la metodica di campionamento. Abbiamo già accennato prima che il campionamento deve essere casuale. Studi recenti hanno dimostrato che maggiore precisione viene ottenuta con un campionamento sistematico e non casuale (Cruz-Orive e Myking, 1981). Ciò, tuttavia, non è sufficiente per strutture anisotrope, come ad es. miofibrille, collagene, cartilagine di accrescimento; per strutture che hanno orientamenti preferenziali devono essere applicati metodi di statistica direzionale (Cruz-Orive *et al.*, 1985) e sistemi di campionamento ed analisi delle immagini particolari (Cruz-Orive e Hunziker, 1986).

**Bibliografia**

Baccarani Contri M., Fornieri C., Pasquali Ronchetti I., *Conn. Tissue Res.*, 1985, **13**, 237-249.
Basenbacher F., Mortensen K., *Europhysics News*, 1990, **21**, 68.
Brown J. D., *Scan. Microsc.*, 1988, **2**, 653-662.
Bullock G. R., Petrusz P. eds., *Techniques in Immunocytochemistry*, 1982, Academic Press, London.
Cruz-Orive L. M., Myking A. O., *J. Microscopy*, 1981, **143**, 17.
Cruz-Orive L. M., Hoppeler H., Mathieu O., Weibel E. R., *J. Appl. Statist.*, 1985, **34**, 14.
Cruz-Orive L. M., Hunziker E. B., *J. Microscopy*, 1986, **143**, 47-80.
Glauert A. M., *Practical Methods in Electron Microscopy*, 1974-80, voll. 1-11, North-Holland/American-Elsevier, New York.
Hayat M. A. ed., *Electron Microscopy of Enzymes. Principles and Methods*, voll. 1-5, 1973-1977, Van Nostrand Reinhold.
Maher D. M., Hren J. J., Goldstein J. I., Joy D. C. eds., *Introduction to Analytical Electron Microscopy*, 1979, Chapt. 9, Plenum Press, New York.
Olivo J. C., Kahn E., Halpern S. *et al.*, *J. Microscopy*, 1989, **156**, 105-114.
Pollak J. M., Varndell I. M. eds., *Immunolabelling for Electron Microscopy*, 1984, Elsevier, Amsterdam.
Ryan K. P., Bald W. B., Neumann K. *et al.*, *J. Microscopy*, 1990, **158**, 365-378.
Scott J. E., *Biochem. J.*, 1988, **252**, 313.
Sommerville J., Scheer U. eds., *Electron Microscopy in Molecular Biology. A Practical Approach*, 1987, IRL Press, Oxford/Washington DC.
Weibel E. R., *Stereological Methods, Vol. I. Practical Methods for Biological Morphometry*, 1979, Academic Press, London.
Weibel E. R., *Stereological Methods, Vol. II. Theoretical Foundations*, 1980, Academic Press, London.

IVONNE PASQUALI RONCHETTI

## MICROSCOPIA E MICROSCOPIO [v. vol. IX, col. 1245]

SOMMARIO



**Introduzione**

Le basi storiche, il ruolo che il microscopio ottico ha avuto nello sviluppo delle conoscenze in campo biologico dal diciottesimo al ventesimo secolo, i presupposti culturali e gli sviluppi tecnologici che ne hanno condizionato sia l'evoluzione che la diffusione negli studi biologici e medici, sono stati esaurientemente trattati da Vasco Ronchi e da Massimo Aloisi, alla stessa voce della Enciclopedia Medica Italiana (IX, 1245-1269 e, rispettivamente, 1269-1276).

Ci limiteremo ad aggiungere alcune informazioni sugli ultimi sviluppi tecnologici, di allestimento dei campioni e di applicazioni nel campo biomedico di uno strumento che,



Digitized by Google

come già osservato dal Prof. Aloisi, aveva raggiunto il massimo di potenzialità informative, sia teoriche che pratiche, più di una trentina di anni orsono, ma che negli ultimi anni, utilizzando dispositivi e metodologie sviluppate prioritariamente per altri settori, ha conosciuto uno sviluppo ulteriore ed ha fornito informazioni nuove sulla struttura e sulla fisiologia dei sistemi biologici.

**Microscopio acustico**

La microscopia acustica si è sviluppata negli ultimi venti anni. Fornisce informazioni sulle strutture vicino alla superficie di oggetti; in biologia è stata applicata sia a tessuti fissati che a cellule o microrganismi viventi. Infatti, il suo principale vantaggio è quello di non essere particolarmente distruente per il materiale biologico e di dare informazioni in assenza di «colorazioni».

Si basa sull'uso di un'onda acustica collimata generata da un trasduttore a film piezoelettrico di ossido di zinco ad una frequenza da 50 Hz a parecchi GHz. Il raggio acustico viene focalizzato sul campione da lenti sferiche, alle quali il campione è collegato attraverso un liquido nel quale l'onda si propaga. L'energia dell'onda acustica trasmessa dal campione viene raccolta da una seconda lente confocale alla prima e collimata prima di essere convertita in un segnale elettrico.

Nel caso di campioni ottimali, rivela strutture fino ad una profondità di parecchi decimi di millimetro con una risoluzione di 1 μm. Informazioni sulla superficie del campione possono essere ottenute raccogliendo il segnale acustico riflesso dal punto di incidenza. In ambedue i casi, il segnale acustico viene raccolto punto per punto e l'immagine dell'oggetto si ottiene tramite una scansione ortogonale bidimensionale di tutto il campione.

L'applicazione in biologia della microscopia acustica non è ancora molto sviluppata per le difficoltà nella interpretazione dei segnali. È stata applicata allo studio della ghiandola mammaria nella speranza di poterla utilizzare nella diagnosi precoce di tumore; infatti, è in grado di fornire informazioni oltre che sulla struttura del tessuto anche sulla quantità di cellule e sul loro coefficiente di assorbimento acustico per unità di spessore.

**Microscopio confocale**

Il principio teorico del microscopio confocale (*Confocal Scanning Light Microscope*) è stato formulato negli anni '60, ma la prima immagine ottenuta col sistema a scansione è del 1934. Infatti, Zworkin, nel 1934, utilizzando una telecamera, dimostrò che l'ingrandimento di un preparato illuminato nell'ultravioletto, poteva essere controllato variando l'area di scansione del preparato stesso. Il sistema è stato ripreso nel 1951 da Young e Roberts, e perfezionato nel 1957 da Minsky, che lo brevettò. La differenza principale fra la microscopia confocale e quella tradizionale è che nella microscopia ottica tradizionale tutti i punti dell'oggetto sono rilevati contemporaneamente, mentre nella microscopia confocale l'immagine viene ottenuta dalla scansione successiva di tutti i punti del campo osservato. Ciò si attua o attraverso un filtro spaziale situato sul percorso ottico della lente obiettiva e del condensatore o mediante un raggio pulsato laser (v. LASER*, *tecniche laser in microscopia*). In questo modo l'illuminazione ed il rilevamento sono limitati nel tempo ad ogni singolo punto del campione e l'immagine complessiva risulta dalla sommatoria delle singole immagini puntiformi. I dispositivi tecnici per ottenere questo risultato sono vari; si ottengono, comunque, due importanti vantaggi rispetto ai sistemi convenzionali: una migliore risoluzione spaziale e, più importante, una

Fig. 1. Schema del microscopio confocale. Il raggio pulsato emesso dal laser viene focalizzato e fatto scorrere sul campione (oggetto) punto per punto; le singole immagini puntiformi vengono raccolte dal rivelatore e inviate all'elaboratore che le ricompone nell'immagine definitiva. (*Originale Dr. G. Mori*).

delimitazione del piano focale dell'immagine e, pertanto, un ridotto disturbo di fondo da segnali fuori-fuoco, con aumento notevole del contrasto (fig. 1).

La stretta delimitazione del piano focale della immagine e la possibilità di variare tale piano focale permettono la raccolta, in successione, di immagini provenienti da piani diversi del campione e, pertanto, la osservazione di preparati spessi tramite il loro «sezionamento ottico» in strati di circa 1 μm. L'immagine finale tridimensionale deriva dalla sommatoria elettronica delle singole immagini (Carlsson e Liljeborg, 1989).

Un altro vantaggio della microscopia confocale è che la raccolta per punti dell'immagine è particolarmente adatta alla sua archiviazione in calcolatori per una immediata, o successiva, elaborazione (Wilson e Sheppard, 1984). Così ad es., la possibilità di esaminare sezioni distinte di campioni spessi per ricombinarle in un'unica immagine, unitamente alla possibilità di generare elettronicamente colori fittizi, sulla base delle tonalità di grigio direttamente rilevate, genera immagini molto suggestive e di facile lettura (Suzuki *et al.*, 1988) (fig. 2).

Il prevedibile sviluppo che nel futuro avranno i dispositivi di analisi delle immagini, specialmente per quanto riguarda i programmi, potrà fornire ulteriori informazioni sulla organizzazione delle strutture biologiche.

La fonte di luce può essere una lampada (TSM: *Tandem Scanning Microscope*) o un laser raffreddato ad aria, che emette, normalmente, tra 450 e 515 nm (CSLM: *Confocal Scanning Laser Microscope*; v. LASER*). Nel primo caso si ha un sistema più flessibile, ma con poca potenza, che richiede un sistema di amplificazione del segnale molto sensibile ed efficiente.

Importante nella microscopia confocale è la velocità di scansione del preparato. Questa è stata recentemente molto migliorata introducendo deflettori ottico-acustici, i quali danno immagini in tempi video (1/25 sec) (Drajier e Houpt, 1988).

Altro punto ancora allo studio è lo spessore della «sezione ottica» del campione esaminato. Al momento questa è molto superiore al limite teorico, sia perché il diametro del raggio laser è molte volte più grande del limite di diffrazione, sia per aberrazioni delle lenti e non preciso allineamento delle lenti con l'asse ottico del sistema.

Negli ultimi anni sono usciti numerosi lavori su riviste specializzate riportanti la costruzione di prototipi o modifiche a strumentazione già in commercio, tendenti a migliorarne le prestazioni. Tra queste sono state particolarmente considerate la risoluzione, la discriminazione dei piani focali, la velocità di raccolta e ricostruzione dell'immagine, specie se in tridimensione (Wilson, 1989a), la




Digitized by Google

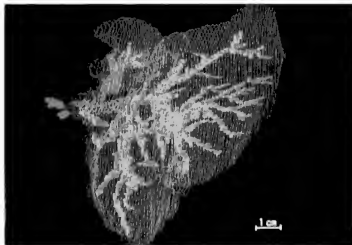



Fig. 2. Immagine ricostruita del sistema biliare epatico in caso di tumore dei dotti biliari. I colori fittizi derivano dalla elaborazione elettronica dei segnali ottici ottenuti mediante microscopio confocale. *In verde* sono rappresentati i dotti biliari, *in rosso* il tessuto tumorale ed *in azzurro* il tessuto displastico associato al tumore. (*Da Suzuki et al., 1988. Per cortesia della Royal Microscopical Society*).

sensibilità del sistema rivelatore, sulla base anche del tipo di luce da analizzare, se trasmessa o riflessa dal campione o emessa da campione fluorescente.

Il microscopio confocale, nelle sue versioni *confocal scanning laser microscope* (CSLM) o *tandem scanning microscope* (TSM), si sta rivelando particolarmente interessante per osservazioni di campioni naturalmente o artificialmente fluorescenti. Infatti, il particolare sistema di raccolta dell'immagine riduce le interferenze dei piani fuori-fuoco e pertanto la brillanza di fondo che, nei microscopi tradizionali, toglie nitidezza all'immagine stessa (Wilson, 1989b). C'è ancora discussione fra i ricercatori circa l'efficienza, per quanto riguarda tempo reale di immagine, sensibilità ed affidabilità, dei due sistemi confocali di rilevamento dell'immagine: il classico *confocal scanning laser microscope* (CSLM) e il *tandem scanning microscope* (TSM), che si avvale di una lampada ad arco. Appare, tuttavia, sempre più chiaro che, teoricamente, i sistemi si equivalgono, purché siano affiancati da dispositivi sensibili per una intensificazione ed elaborazione dei segnali (Boyde *et al.*, 1990).

**Microscopio ad effetto tunnel**

Questo sistema di indagine (PSTM: *Photon Scanning Tunneling Microscope*) è stato proposto e brevettato nel 1982 da Pohl. Come tutte le microscopie ad effetto tunnel, è basato sul rilevamento di strutture tramite una punta che scorre su una superficie a distanza molto ravvicinata, ma senza toccarla (NSOM: *Near Field Scanning Optical Microscopy*; v. anche LASER*, *tecniche laser in microscopia*). Il segnale che intercorre fra punta e superficie può essere elettrico o elettromagnetico.

Nel caso del microscopio ottico ad effetto tunnel vengono utilizzate onde elettromagnetiche dello spettro visibile. La disponibilità di fonti luminose coerenti e di rivelatori molto sensibili, la possibilità di utilizzare campioni colorati e, pertanto, di potere sfruttare informazioni spettroscopiche provenienti dal campione, rendono l'uso dello spettro visibile molto interessante. Infine, il campione può essere osservato in condizioni fisiologiche e non è necessario renderlo elettricamente conducente, come nel caso della microscopia a scansione ad effetto tunnel.

Il segnale deriva dalla variazione delle caratteristiche della radiazione di una antenna ottica, illuminata e mantenuta a distanza fissa dal campione, all'avvicinarsi di un altro mezzo (il campione stesso). Opportunamente amplificato ed elaborato, il segnale è in grado di fornire una risoluzione di circa 20 nm per campioni non biologici, cioè di un ordine di grandezza inferiore al microscopio ottico convenzionale. Al momento, le applicazioni di tale metodologia allo studio di materiale biologico sono scarse, ma se ne può prevedere un enorme sviluppo.

Per una più ampia trattazione della microscopia ottica a scansione a campo ravvicinato o prossimo (NSOM: *Near Field Scanning Optical Microscopy*), v. anche: LASER*, *tecniche laser in microscopia*).

**Luminescenza e fluorescenza risolte nel tempo**

Su campioni o macromolecole naturalmente o artificialmente fluorescenti, ma con fluorescenza che decade nel tempo, è possibile effettuare misurazioni di decadenza o riconoscimenti strutturali differenziati utilizzando appunto i diversi tempi di decadimento dei vari fluorocromi (fig. 3).

Il campione viene illuminato ad impulsi tramite una lampada allo xenon o un laser pulsato o una lampada la cui luce viene fatta passare ad intermittenza; un sistema rivelatore, normalmente une cinepresa molto sensibile, registra la fluorescenza residua dopo l'impulso luminoso. Con questo sistema è possibile registrare il decadimento della fluorescenza di molecole naturalmente fluorescenti, oppure, ed è questo l'uso più interessante, aumentare il numero dei segnali fluorescenti da un singolo campione, sfruttando, oltre alla lunghezza di eccitazione dei fluorocromi, il decadimento caratteristico di ogni singolo fluorocromo, ovviando, pertanto all'eventuale sovrapposizione di spettri di fluorescenza.

I campioni biologici sono caratterizzati da un'elevata autofluorescenza, che interferisce e maschera quella di mar-





Digitized by Google

Fig. 3. Schema di decadimento della fluorescenza di un fluorocromo eccitato ad impulsi. Sfruttando i tempi diversi di decadimento della fluorescenza intrinseca dei campioni biologici (fluorescenza immediata) e di quella dei fluorocromi aggiunti (fluorescenza persistente), si ottengono informazioni sulla precisa localizzazione delle molecole biologiche cui i fluorocromi aggiunti vengono legati. (*Originale Dr. G. Mori*).

antigene antigene antigene antigene

anti anticorpo anticorpo marcatore iper marcatore

Fig. 4. Schema sul riconoscimento e localizzazione di molecole biologiche sfruttando la loro proprietà antigenica. L'anticorpo specifico, prodotto in un animale o secondo la tecnica degli anticorpi monoclonali, si lega spontaneamente all'antigene contro il quale è stato prodotto; la visualizzazione del sito di reazione viene effettuata mediante «marcatore» o «ipermarcatore» dell'anticorpo stesso o dell'anti-anticorpo. (*Originale Dr. G. Mori*).

catori fluorescenti aggiunti. Tuttavia, sfruttando la diversa velocità di decadimento dell'autofluorescenza cellulare, che è rapida al confronto di quella di traccianti artificiali, si può procedere al riconoscimento dei fluorocromi che interessano ed alla valutazione della loro quantità.

Un interessante nuovo tipo di luminescenza è dato dai criptati, costituiti da lantanidi (europio) intrappolati da molecole di piridinio. Emettono un'intensa luminescenza ritardata, facilmente separabile da quella naturale (Blasse *et al.*, 1988). Recentemente, immunoglobuline sono state marcate con cristalli di solfuro di ittrio (*phosphors*), i quali, eccitati a 360 nm, emettono un'intensa fluorescenza ritardata rossa, anch'essa facilmente distinguibile e separabile dall'autofluorescenza dei campioni biologici. Sono stati sintetizzati *phosphors* in grado di emettere a lunghezze d'onda diverse e con tempi di decadimento da 10 microsecondi fino a millisecondi. La simultanea utilizzazione di più *phosphors*, con caratteristiche spettrali e di decadimento diverse, permette, pertanto, la localizzazione contemporanea di più componenti cellulari.

**Tecniche preparative dei campioni**

Nel secolo passato, e fino agli anni '60 di questo secolo, le tecniche di colorazione dei preparati istologici o delle cellule isolate hanno permesso la descrizione, identificazione e classificazione di cellule e tessuti ed hanno fornito le basi dell'istologia e della citologia classiche. Negli ultimi venti anni, alle colorazioni, che non sono quasi mai specifiche per le diverse strutture, si sono affiancate metodiche di riconoscimento di molecole biologiche mediante l'uso di anticorpi. Queste sono proteine prodotte dai linfociti B in seguito ad una stimolazione antigenica ed in grado di riconoscere e di legarsi in modo specifico all'antigene contro il quale sono state prodotte. Il legame può avvenire anche in un ambiente artificiale, purché le condizioni ambientali, salinità e pH, siano corrette. Avendo a disposizione un anticorpo, monoclonale o policlonale, specifico per un antigene cellulare e extracellulare, la reazione può pertanto avvenire in provetta, su sezioni microscopiche o su blocchi di tessuto.

Il contemporaneo sviluppo di metodologie per la visualizzazione ottica o elettronica degli anticorpi, mediante loro «marcatura», rende possibile la localizzazione del prodotto della reazione dell'anticorpo col suo specifico antigene e, quindi, la localizzazione delle molecole utilizzate come antigeni. Tutto ciò ha permesso, in molti casi, di dare un nome a strutture già da tempo osservate e descritte e di raccogliere molte nuove informazioni sulla struttura e funzione degli oggetti osservati.

La microscopia ottica si è avvalsa di queste metodiche, sviluppate prevalentemente per altri scopi e, a tuttoggi, c'è un gran fiorire di studi tendenti alla localizzazione, ed anche alla quantizzazione, di molecole biologiche di nuovo isolamento e caratterizzazione.

Il riconoscimento visivo dell'anticorpo viene effettuato mediante «marcatura» dell'anticorpo o dell'anti-anticorpo con una molecola fluorescente (rodamina, fluorescina), o con un enzima il cui prodotto di reazione sia visibile al microscopio ottico, o con oro colloidale a cui viene fatta seguire una reazione di precipitazione di sali d'argento. Questi sistemi di rivelazione sono ormai standardizzati e sono riassumibili nella fig. 4.

Lo scopo di tutta una serie di studi ora in corso è quello di arrivare a localizzare, a livello cellulare e non, tutte le componenti molecolari note e poter così tracciare una mappa molecolare della struttura/funzione dei sistemi biologici. L'avanzamento delle conoscenze in questo settore dipende unicamente dalla possibilità di disporre di molecole antigeniche allo stato puro e ottenere così anticorpi veramente univoci e specifici.

Tuttavia, nonostante la quantità enorme di informazioni che tale tecnica ha fornito negli ultimi anni, e come insito in qualsiasi tipo di indagine scientifica, una singola metodologia offre un quadro particolare ed incompleto dell'oggetto allo studio. Si rende pertanto necessario affiancare alle tecniche di immunolocalizzazione, e a seconda dei problemi specifici, metodiche di colorazione convenzionale dei campioni o di fluorescenza (spontanea o indotta da particolari reazioni chimiche) o di marcatura con altri sistemi (tipo la marcatura retrograda con perossidasi da rafano [*horseradish peroxidase*] o oro-fluoro per la identificazione delle proiezioni dei neuroni catecolaminergici), al fine di una sempre più completa definizione della struttura/funzione dell'oggetto in esame.

Una metodica che è attualmente molto utilizzata è quella della ibridazione *in situ*. Questa tecnica si è sviluppata con

Fig. 5. Sezione di tessuto sinoviale del ginocchio umano normale. Immagine in campo chiaro (*a*) e in campo scuro (*b*) dopo ibridizzazione *in situ* con una sonda molecolare di cDNA per la fibronectina, una glicoproteina tipica della matrice extracellulare. La morfologia del tessuto è ben evidente nell'immagine in campo chiaro, mentre l'intensità e localizzazione dei grani d'argento, ottenuti dopo esposizione autoradiografica della sezione, è apprezzabile in campo scuro e rivela i siti di sintesi della fibronectina. 200 ×. (*Immagini gentilmente fornite dalla Dr.ssa Daniela Quaglino*).

la possibilità di avere a disposizione sonde molecolari (v.*) in grado di riconoscere geni o frammenti di geni o particolari RNA. Può essere utilizzata per individuare difetti genici, efficienza o alterazioni di trascrizione genica e di sintesi proteica. L'uso, ad es., di sonde di cDNA in grado di riconoscere e legarsi all'RNA messaggero complementare citoplasmatico, può essere sfruttato per la identificazione, nell'ambito di una popolazione, delle cellule attivamente impegnate nella sintesi della proteina codificata dal gene considerato. Il procedimento consiste nel marcare il cDNA con, ad es., fosforo radioattivo, incubare le sezioni tessutali, o le cellule rese permeabili, con il cDNA marcato, ed evidenziare il sito di reazione cDNA/mRNA complementare mediante impressione di un'emulsione fotografica all'argento. Dopo sviluppo dell'emulsione, la precipitazione dei sali d'argento sull'RNA messaggero delle cellule che lo stanno producendo è chiaramente osservabile mediante microscopia ottica in campo scuro. Già oggi, ma ancora più nel prossimo futuro, è possibile marcare il cDNA con un fluorocromo al posto del fosforo radioattivo. È evidente che il sito della reazione dovrà essere visualizzato mediante dispositivi a fluorescenza. In ogni modo la localizzazione e la identificazione delle cellule impegnate nella sintesi proteica devono essere effettuate mediante combinazione dell'immagine in campo scuro o a fluorescenza con quella ottenuta dopo colorazione convenzionale ed osservata in campo chiaro (fig. 5).

Risulta pertanto ovvio che, accanto alle tecniche preparative dei campioni, devono essere predisposti microscopi in grado di cogliere i diversi segnali provenienti dallo stesso preparato. Il campo chiaro deve pertanto potere essere abbinato al campo scuro, alla fluorescenza, alla osservazione in interferenza.

L'utilizzazione di traccianti, visibili direttamente o dopo elaborazione elettronica dei segnali, è ormai abbastanza diffusa e le metodiche per allestire i campioni variano a seconda del problema allo studio. De Brabander *et al.*, (1989) hanno usato oro colloidale in studi volti alla conoscenza del dinamismo endocellulare. Particelle di oro colloidale cariche negativamente, iniettate o assunte attivamente da cellule, sono state osservate muoversi entro la cellula con modalità dipendenti dalla fisiologia cellulare; le osservazioni sono state effettuate mediante contrasto di interferenza differenziale (DIC) ed elaborazione elettronica del segnale.

**Tecniche multiple di osservazione**

La complessità delle strutture biologiche e, come accennato sopra, la necessità di utilizzare marcatori diversi per diverse strutture, spesso richiedono la combinazione di più sistemi di rivelazione per uno stesso campione. L'uso di fluorocromi e di colorazioni convenzionali rende necessario un microscopio ottico a trasmissione corredato, però, dai filtri per fluorescenza. Come accennato sopra, la ibridizzazione *in situ*, rivelata tramite precipitazione di sali d'argento, necessita di osservazioni combinate in campo scuro e campo chiaro.

Ci sono in letteratura numerosi esempi in cui, dati provenienti da osservazioni al microscopio ottico in campo scuro e a contrasto di fase, opportunamente combinati ed

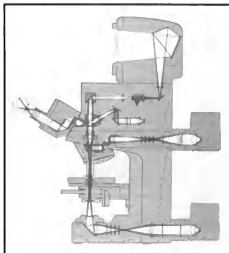



Fig. 6. Rappresentazione schematica del fotomicroscopio Axiophot®, Zeiss. (*Per gentile concessione della Zeiss*).

elaborati tramite elaboratore di immagini, hanno offerto dettagli strutturali che, senza andare oltre i limiti di risoluzione fissati dalla formula di Abbe, non sono possibili senza la combinazione di più tecniche di osservazione. La risoluzione dei dettagli può essere talmente spinta da arrivare a sovrapporsi a quella del microscopio elettronico a piccolo ingrandimento e a chiarire la struttura di particelle, come diatomee o batteriofagi, in condizioni fisiologiche, senza pertanto dover ricorrere ai trattamenti drastici, tipo la disidratazione, necessari per l'osservazione al microscopio elettronico.

Ulteriore vantaggio di questi tipi multipli di osservazione, che diventeranno sempre più diffusi col diffondersi e l'affinarsi dei sistemi di analisi delle immagini, è la possibilità di studiare eventi dinamici submicroscopici. Strutture biologiche complesse, come virus, macromolecole tipo collagene, polimeri di actina o di cellulosa, DNA, etc., potranno essere studiati nella loro dinamicità strutturale. Delgado *et al.* (1989) sono stati in grado di osservare la contrazione della coda del batteriofago T4 subito dopo adsorbimento sulla superficie della cellula bersaglio. I moderni microscopi ottici da ricerca sono tutti corredati di sistemi multipli di osservazione. Con semplici cambi di obiettivo, di lenti o filtri si passa dall'osservazione in campo chiaro a quella in campo scuro, a contrasto di fase, ad interferenza, a fluorescenza (fig. 6).

**Considerazioni conclusive e prospettive**

L'applicazione delle tecniche microscopiche in senso lato, da quelle classiche a quelle che al momento sono ancora in fase di studio, è prevedibile che avrà un forte sviluppo negli studi biologici e medici del prossimo futuro.

Nel recente passato, la microscopia ottica in biologia e medicina è stata profondamente influenzata dalla possibilità di utilizzare marcatori specifici per costituenti cellulari e non, come gli anticorpi mono- e policlonali e cDNA. Questi tipi di studio sono appena iniziati e la loro progressione andrà di pari passo con la possibilità di disporre di nuovi «marcatori» e, pertanto, con lo sviluppo delle biotecnologie. A questo si deve aggiungere l'enorme progresso della microelettronica, dei calcolatori e dei programmi per l'analisi delle immagini. Tali dispositivi sono ormai inseriti, con importanza strategica, nei sistemi di rilevamento, «pulitura» dei segnali provenienti dal campione dai disturbi di fondo e ricostruzione delle immagini; anche in questo settore sono prevedibili interessanti e rapidi sviluppi.

La microscopia ottica confocale, ancora in fase di sviluppo, ha migliorato risoluzione e contrasto dei campioni biologici e, associata ad elaboratori di immagini, permette la ricostruzione tridimensionale di oggetti ripresi a due dimensioni, con ottima risoluzione spaziale.

Infine, anche il limite di risoluzione fissato dalla legge di Abbe sulla diffrazione della luce viene superato dalla scoperta che tale limite è condizionato dalla grandezza di apertura del diaframma e, per aperture inferiori a 10 nm, la risoluzione spaziale può scendere ai livelli del microscopio elettronico a scansione (SEM), col vantaggio di potere effettuare osservazioni a pressione atmosferica e di utilizzare radiazioni visibili non distruenti per il materiale biologico (Isaacson *et al.*, 1986).

Le «colorazioni» delle macromolecole biologiche sono state affiancate, e talvolta sostituite, da traccianti fluorescenti o radioattivi. Questi ultimi tuttavia non sono ottimali sia per problemi di inquinamento sia per la bassa risoluzione che possono offrire. Si può prevedere che nel futuro saranno sviluppati molto di più i sistemi di rivelazione fluorescenti, ma dovrà essere migliorata la sensibilità dei dispositivi di raccolta dei segnali per una più definita localizzazione e per una quantizzazione delle molecole fluorescenti presenti nel campione. Le limitazioni più importanti per il raggiungimento del limite teorico dell'uso della fluorescenza sono la relativamente alta autofluorescenza del materiale biologico (l'autofluorescenza di una cellula equivale circa a quella di 10.000 molecole di fluorescina) e la fluorescenza dei componenti del microscopio.

La bioluminescenza o la chemiluminescenza, quando è possibile usarle come marcatori di molecole biologiche, si stanno rivelando molto promettenti. In questi casi la energia di eccitazione deriva da una reazione chimica nel campione e non dalla radiazione elettromagnetica visibile che attraversa ed eccita tutto il campione. Questi «marcatori», tuttavia, sono utilizzabili solo in alcune circostanze, danno segnali molto deboli e necessitano di sistemi rivelatori molto sensibili.

Molto promettenti sono anche i «marcatori» fluorescenti di nuova sintesi, come i *phosphors*, in grado di emettere fluorescenza ritardata e di diversa lunghezza d'onda in seguito ad eccitazione nella zona dell'ultravioletto.

**Bibliografia**


Baro A. M., Miranda R., Alaman J. *et al.*, *Nature*, 1985, **315**, 253.
Beebe T. P., Wilson T. E., Ogletree D. F. *et al.*, *Science*,, 1989, **243**, 370.
Blasse G., Dirksen G. J., Van der Voort D. N. *et al.*, *Chem. Phys. Lett.*, 1988, **146**, 347.
Boyde A., Jones S. J., Taylor M. L., Wolfe L. A., *J. Microscopy*, 1990, **157**, 39-49.
Carlsson K., Liljeborg A., *J. Microscopy*, 1989, **153**, 171, 180.
De Brabander M., Geerts H., Nuydens R., Nuyens R., *Am. J. Anat.*, 1989, **185**, 282-295.
Delgado III R. M., Fink M. J., Brown R. M. jr., *J. Microscopy*, 1989, **154**, 129-141.
Drajier A., Houpt P. M., *Scanning*, 1988, **10**, 139.
Isaacson M., Betzig E., Harootunian A., Lewis A., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1986, **483**, 448.
Mantovani J. G., Allison, D. P., Warmack R. J. *et al.*, *J. Microscopy*, 1990, **158**, 109-116.
Minsky M. L., *Microscopy Apparatus*, US Patent n. 3, 013, 467, filed Nov. 7, 1957.
Pohl D. W., *Optical Near-Field Scanning Microscope*. European Patent Application No. 0112401, 27 Dec. 1982; US Patent 4, 604, 520, filed 20 Dec. 1983.
Sonnenfeld R., Hansma P. K., *Science*, 1986, **232**, 211.
Suzuki M., Takahashi T., Ohuchi K., *J. Microscopy*, 1988, **149**, 175-183.
Voelker M. A., Hameroff S. R., He J. D. *et al.*, *J. Microscopy*, 1988, **152**, 557-566.
Wilson T., *J. Microscopy*, 1989a, **153**, 161-169.
Wilson T., *J. Microscopy*, 1989b, **154**, 143-156.
Wilson T., Sheppard C. J. R., *Theory and Practice of Scanning Optical Microscopy*, 1984, Academic Press, London.
Young J. Z., Roberts F., *Nature*, 1952, **167**, 231.
Zworkin V. K., Electric microscope. *Atti del I Congresso Internazionale di Electroradio-biologia*, Sett. 1934, pp. 672-686.


IVONNE PASQUALI RONCHETTI

## MICROSOMALE EPATICO SISTEMA

F. *système microsomal hépatique*. - I. *microsomal hepatic system*.

SOMMARIO



**Introduzione**

Negli epatociti il reticolo endoplasmatico liscio è la sede di numerose attività enzimatiche le più importanti delle quali sono riportate nella tab. I.



Digitized by Google

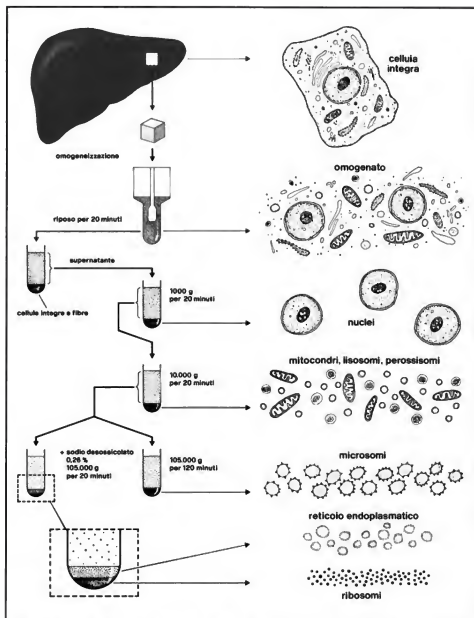



Fig. 1. Schema che illustra le varie tappe della tecnica di centrifugazione differenziale. (*Da E. D. P. e E. M. F. De Robertis, Biologia della cellula e molecolare, 1990, Zanichelli, Bologna, modificata e ridisegnata*).

**TAB. I. ATTIVITÀ ENZIMATICHE LOCALIZZATE NEL RETICOLO ENDOPLASMATICO LISCIO**

**Sintesi degli acidi grassi**
allungamento degli acidi grassi saturi e insaturi.

**Metabolismo degli steroidi**
sintesi del colesterolo a partire dallo squalene;
formazione degli ormoni steroidei, pregnenolone, progesterone, testosterone, aldosterone.

**Coniugazione**
metabolismo dell'acido UDP-glicuronico.

**Metabolismo dei lipidi**
sintesi dei trigliceridi;
formazione di complessi lipoproteici.

**Ossidazione**
attivazione di idrocarburi aromatici policiclici;
disattivazione di composti aromatici e alchilici mediante idrossilazione;
deaminazione ossidativa;
dealogenazione di composti alogenati.

**Partecipazione alla glicogenolisi**
mobilizzazione del glicoso attraverso la glicoso-6-fosfatasi.

Il reticolo endoplasmatico liscio è il costituente principale della frazione microsomale epatica ottenuta mediante centrifugazione differenziale del fegato. Il metodo comporta essenzialmente la omogeneizzazione meccanica del tessuto e la separazione differenziale delle frazioni subcellulari degli epatociti. Esso sfrutta la resistenza alla forza di gravità dei costituenti fondamentali della cellula epatica (nuclei, mitocondri, membrane, organelli citoplasmatici). Lo schema riportato dalla fig. 1 mostra le tappe del processo di frazionamento e separazione dei microsomi epatici. Il fegato viene dapprima risospeso in una soluzione tampone e disgregato meccanicamente con un omogeneizzatore costituito da una guaina in vetro e un pestello in teflon e successivamente sottoposto a centrifugazione. A 1000 g il sedimento risulta essere composto da particelle nucleari; centrifugando ulteriormente a 10.000 g si separano le particelle mitocondriali e infine a 105.000 g si raccoglie la frazione microsomale propriamente detta, sede delle attività enzimatiche riportate dalla tab. I.

La ulteriore centrifugazione con un detergente specifico permette di separare i costituenti fondamentali della frazione microsomale: il reticolo endoplasmatico e i ribosomi. Pertanto il sistema microsomale epatico [s.m.e.] non esiste autonomamente con una propria configurazione strutturale all'interno dell'epatocita, ma è semplicemente il risultato della frammentazione e accumulo degli elementi membranosi presenti nel citoplasma cellulare. Tale frazione è infatti composta in prevalenza da frammenti di reticolo endoplasmatico liscio con associati residui dell'apparato di Golgi, della membrana plasmatica e dei ribosomi.

Morfologicamente il reticolo endoplasmatico è costituito da fasci paralleli di cisterne e vescicole che riempiono lo spazio citoplasmatico. Si distinguono due tipi di reticolo endoplasmatico: rugoso, quando la superficie esterna delle vescicole è rivestita di ribosomi e liscio, quando questi ultimi sono assenti. Chimicamente la frazione microsomale epatica è composta da RNA (70-90% dell'RNA totale), lipidi e proteine. Il microscopio elettronico (fig. 2) mostra in dettaglio l'esito del frazionamento subcellulare. Le strutture circolari visibili rappresentano vescicole, cisterne e capsule di reticolo endoplasmatico. Molte di esse sono circondate da strutture rotondeggianti più scure e più piccole che rappresentano i ribosomi.

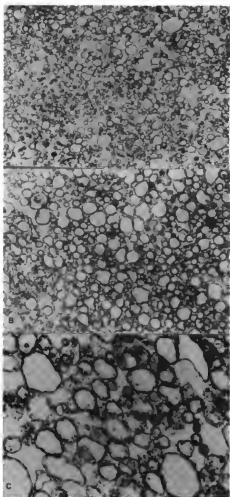



Fig. 2. Esame al microscopio elettronico della frazione microsomale epatica. *A*) La figura (30.000 ×) mostra il reticolo endoplasmatico liscio. *B*) La figura (30.000 ×) mostra il reticolo endoplasmatico ruvido. *C*) La figura (80.000 ×) mostra il reticolo ruvido ad un maggiore ingrandimento, per evidenziare i ribosomi attaccati alla parete esterna delle vescicole. (*Da M. R. Adelman, G. Blobel e D. D. Sabatini, J. Cell Biol., 1973, 56, 200*).

**TAB. II. MECCANISMI DI BIOTRASFORMAZIONE EPATICA**

| Substrati | Fase I ⟶ attivazione o inattivazione | ossidazione o riduzione | Fase II ⟶ inattivazione | Prodotti di coniugazione | ⟶ | Escrezione e eliminazione |
|---|---|---|---|---|---|---|

Il s. m. e. è responsabile di tre funzioni enzimatiche principali: *a*) la ossidazione; *b*) la coniugazione; c) la riduzione, in misura minore.

A causa del meccanismo d'azione di queste reazioni e delle proprietà biofarmacologiche dei metaboliti, risulta conveniente suddividere il metabolismo epatico in due fasi distinte (tab. II).

Le reazioni di ossidazione e riduzione che appartengono al metabolismo di fase I danno luogo prevalentemente alla inattivazione del substrato specifico. Tali reazioni possono svolgere però anche una funzione attivante o «tossificante» di numerose sostanze esogene inizialmente inattive e rese tossiche in seguito al processo di trasformazione metabolica eseguito dallo stesso apparato microsomale (cfr. ad es., la formazione di un metabolita epatotossico del paracetamolo [v.; v.*]).

Le reazioni di coniugazione che appartengono al metabolismo di fase II convertono generalmente i substrati attivi in prodotti inattivi solubili favorendone l'escrezione per via biliare o urinaria. La più importante delle reazioni di coniugazione a carico del s. m. e. è la β-glicuronidazione che verrà descritta più avanti.

Oltre al citocromo P450, nei microsomi è stato identificato un altro citocromo che ha la funzione di secondo donatore di elettroni al P450 in modo da soddisfare l'eventuale richiesta di due elettroni per una reazione completa. Tale citocromo è denominato $b_5$ e gli enzimi coinvolti sono definiti diossigenasi.

Fig. 3. Meccanismo d'azione ipotizzato per il citocromo P450-dipendente microsomale. (*Da Drug Metabolism Reviews, 1986, 17, 11*).

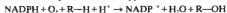
**Reazioni enzimatiche del sistema microsomale epatico**

Le maggiori reazioni enzimatiche svolte dal s. m. e. sono le seguenti.

*Ossidazione*

Il processo di ossidazione svolto dal s. m. e. è affidato ad un complesso meccanismo enzimatico che per svolgere tale funzione necessita dei cofattori NADPH e NADH in presenza di ossigeno elementare. I componenti enzimatici chiave del sistema sono la flavoproteina NADPH-citocromo P450 ossidoreduttasi e il citocromo P450. Quest'ultimo è costituito da una proteina complessa con un gruppo prostetico formato da un piano pirrolico il cui centro attivo è occupato da un gruppo eme costituito da ferro ionico circondato da quattro gruppi azoto. Nella sua forma ridotta il citocromo P450 si combina con monossido di carbonio per formare un complesso con la parte prostetica della proteina che ha un massimo di assorbimento a 450 nm. Per questa ragione è stato denominato «citocromo P450».

Sono stati postulati numerosi meccanismi capaci di spiegare la successione delle tappe che portano alla ossidazione del substrato da parte del sistema microsomale citocromo P450-dipendente. Una delle ipotesi è illustrata dalla fig. 3. La richiesta di NADPH e ossigeno suggerisce che il cofattore, unitamente alla flavoproteina, potrebbe ridurre il componente attivo dei microsomi epatici, il citocromo P450; questo a sua volta reagendo con l'ossigeno formerebbe un intermedio che subito dopo cederebbe il proprio ossigeno attivato al substrato da ossidare (R—H). Il risultato netto della reazione può essere così rappresentato:

$$NADPH + O_2 + R—H + H^+ \rightarrow NADP^+ + H_2O + R—OH$$

Esistono differenti citrocromi P450-dipendenti nel fegato che mostrano una eterogenea specificità di substrato e sono sotto il controllo di geni differenti. Questo prova che il metabolismo ossidativo è influenzato dal polimorfismo genetico, cioè dalle variazioni ereditarie tra individui nella quantità di specifici citocromi e delle corrispondenti differenze nella loro attività metabolica verso substrati specifici. Lo sviluppo delle tecniche di biologia molecolare ha permesso di individuare numerose famiglie di geni del P450: attualmente, a livello epatico, sono state identificate quattro famiglie denominate: P450 I, II, III e IV. La fig. 4 mostra la diversificazione avvenuta nel tempo delle sequenze del gene P450IIE (una sottofamiglia del II gruppo dei P450 epatici) in diversi mammiferi. Dal grafico si deduce che la divergenza genetica sembra essere iniziata circa 7 milioni di anni fa in coincidenza con imponenti mutamenti climatici. Ciò ha fatto nascere l'affascinante ipotesi che il polimorfismo genetico dei citocromi P450 si sarebbe imposto con la necessità di modificare il proprio regime dietetico o le proprie abitudini alimentari in seguito a forti mutamenti ambientali. In questo modo sarebbero stati selezionati quei citocromi che risultarono più efficaci nel contrastrare i potenziali effetti tossici del nuovo regime alimentare. Ciò potrebbe giustificare la relativa incidenza di malattie tumorali indotte da particolari sostanze

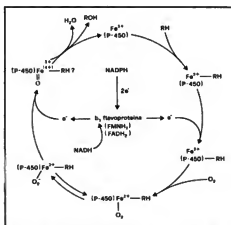
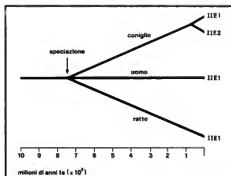



Fig. 4. Evoluzione dei geni P450IIE di ratto, coniglio e uomo. (*Da F. J. Gonzales, The molecular biology of cytochrome P450s, Pharmacological Reviews, 1989, 40, 248*).

chimiche, come quelle assorbite con il fumo delle sigarette, in quanto la specie umana non sarebbe in grado, in così poco tempo, di diversificare i propri meccanismi genetici di difesa contro le modificazioni dell'ambiente chimico indotte da lui stesso.

La maggior parte delle reazioni ossidative del s. m. e. P450-dipendente possono essere descritte con un meccanismo di idrossilazione. Sono riconducibili a tale meccanismo (i substrati sono tra parentesi):

— l'idrossilazione delle catene alchiliche (ω-ossidazione degli acidi grassi);

— l'idrossilazione dell'anello alchilico (ormoni steroidei);

— l'idrossilazione aromatica (idrocarburi aromatici policiclici);

— la N-idrossilazione (amine primarie e secondarie).

Le tre reazioni successive richiedono invece la formazione di un intermedio idrossilato instabile e portano ad un metabolita finale spesso più reattivo del substrato iniziale;

— la O-dealchilazione che comporta l'allontanamento di un gruppo alchilico dal substrato;

— la N-dealchilazione il cui meccanismo d'azione è analogo al precedente ma coinvolge l'atomo di azoto invece dell'ossigeno;

— la deaminazione ossidativa (anfetamine).

Ulteriori reazioni enzimatiche svolte dal s. m. e. sono:

— la dealogenazione, ovvero l'allontanamento di alogeni da substrati alogenati (tetracloruro di carbonio, cloroformio);

— l'epossidazione ovvero la formazione di ponti di ossigeno (epossidi) tra due atomi adiacenti. Tale reazione nella maggior parte dei casi rende la molecola instabile ed estremamente reattiva. L'enzima coinvolto è denominato monossigenasi.

Si conoscono casi ove interviene un altro enzima microsomale, l'epossidoidrasi, che apre l'epossido dando luogo al corrispondente diidrodiolo (metabolismo dello stirene). Il benzo(a)pirene è un esempio tipico di substrato che dà luogo alla formazione di un epossido instabile ed estremamente reattivo con le macromolecole funzionali della cellula (DNA, proteine, etc.). Questo meccanismo risulterebbe responsabile del potere cancerogeno di tale composto.

*Coniugazione*

L'ac. glicuronico secreto dagli epatociti interviene, unitamente all'enzima microsomale UDP-glicuroniltransferasi, alla coniugazione di composti alchilici o arilici idrossilati. Il prodotto coniugato, il β-glicuronide, reso più idrosolubile, può così essere escreto nella bile o nel plasma. I substrati endogeni della glicuronidazione comprendono tra gli altri gli ormoni steroidei e la bilirubina. La coniugazione non costituisce necessariamente un meccanismo di inattivazione. Recentemente è stato infatti osservato che la morfina-6-glicuronide è un analgesico più potente della morfina stessa.

*Riduzione*

Si conosce una via metabolica che favorisce la nitroriduzione di farmaci come il cloramfenicolo che è trasformato nella amina corrispondente passando attraverso intermedi nitrosi e idrossilaminici. Alcuni sulfamidici sono attivati metabolicamente dai microsomi per riduzione dell'azocomposto inziale.

**Inibizione enzimatica**

Il s. m. e. P450-dipendente può essere stimolato o inibito da sostanze esogene. Ciò spiega l'interazione metabolica tra differenti farmaci che dà luogo al fenomeno della tolleranza o di una aumentata sensibilità farmacologica (potenziamento dell'attività terapeutica o della tossicità). L'inibizione della attività enzimatica è provocata da un farmaco quando esso compete con altri substrati enzimatici, oppure è indotta dal metabolita attivo del farmaco stesso che danneggia le strutture macromolecolari dei microsomi. È noto il meccanismo d'azione del proadifen (SKF 525A) che altera la capacità degli enzimi microsomali epatici di metabolizzare molti farmaci (barbiturici). Alcuni ormoni steroidei (testosterone, cortisolo, etc.) inibiscono competitivamente il metabolismo microsomale di sedativi e analgesici. L'attività inibitoria di questi farmaci non presenta un ampio spettro d'azione ma è selettiva verso alcune delle attività microsomali normali del fegato (per es. la deaminazione ossidativa).

**Induzione enzimatica**

A differenza dei meccanismi d'azione responsabili della inibizione enzimatica che influenzano la $K_m$ (costante di Michaelis) e la concentrazione dei substrati specifici, il processo di induzione microsomale stimola la sintesi *ex novo* di proteine microsomali e quindi un aumento della concentrazione dei microsomi epatici. Si conoscono due classi specifiche di induttori del s. m. e. P450-dipendente:

a) gli induttori tipo fenobarbitale (sedativi, barbiturici, analgesici);

b) gli induttori tipo 3-metilcolantrene (idrocarburi policiclici aromatici).

Il primo tipo ha uno spettro d'azione sovrapponibile alle attività microsomali normalmente presenti nel fegato. Il secondo tipo presenta una maggiore selettività d'azione e coinvolge un citocromo diverso dal P450 che normalmente non è presente nel fegato: il citocromo P448. È stata riscontrata una maggiore durata d'azione degli induttori del primo tipo rispetto al secondo ed inoltre è stato dimostrato un effetto più marcato sui parametri fisiologici epatici degli induttori del primo tipo rispetto al secondo tipo (aumento della massa epatica, della concentrazione proteica microsomale e del reticolo endoplasmatico liscio).

Gli effetti farmacologici dell'induzione enzimatica (tempo, durata d'azione, metabolismo) dipendono dalle caratteristiche del substrato specifico. Se quest'ultimo è di per sé attivo, l'induzione del metabolismo ne diminuirà l'attività farmacologica o terapeutica (tolleranza), se invece risulta attivo il prodotto metabolico, l'effetto dell'induzione enzimatica comporterà un incremento delle proprietà farmacologiche del substrato (sensibilizzazione). Lo stesso vale per la tossicità che dipenderà dalle proprietà del metabolita attivo prodotto o del precursore iniziale.

**Bibliografia**

Bowman W. C., Rand M. J., *Farmacologia*, 1986, EMSI, Torino.
Conney A. H., *Pharmacol. Rev.*, 1967, **19**, 317-366.
De Robertis E. D. P. e E. M. F., *Biologia della cellula e molecolare*, 1990, Zanichelli, Bologna.
Estabrook R. W., Lindenlaub E., Oesch F., de Week A. L., *Toxicological and Immunological Aspects of Drug Metabolism and Environmental Chemicals*, Symposia Medica Hoescht n. 22, 1988, F. K. Schattauer Verlag.
Gonzalez F. J., *Pharmacol. Rev.*, 1989, **40**, 243-288.
Hietanen E., Laitinen M., Hanninen O., *Cytochrome P450, Biochemistry, Biophysics and Environmental Implications*, 1982, Elsevier Biomedical, Amsterdam.
Kato R., Estabrook R. W., Cayen M. N., *Xenobiotic Metabolism and Disposition*, 1989, Taylor & Francis.
La Du B. N., Way E. L., Mandel H. G., *Fundamentals of Drug Metabolism and Drug Disposition*, 1972, Williams & Wilkins, Philadelphia.
Lehninger A. L., *Biochimica*, 1979, Zanichelli, Bologna.
Lu A. Y. H., *Drug Metab. Rev.*, 1979, **10**, 187-208.

PAOLO COCCIA





Digitized by Google

## MICROSPETTROSCOPIA

F. *microspèctroscopie*. - I. *microspectroscopy*. - T. *Mikrospektroskopie*. - S. *microespettroscopia*.

SOMMARIO



### Introduzione

Alla fine degli anni '30 T. Caspersson, adattando ad un microscopio, munito di lenti di quarzo, un fotomoltiplicatore per la misura del segnale ottico proveniente dall'illuminazione del campione, effettuò le prime misure ottiche quantitative microscopiche, aprendo così un nuovo campo di indagine, che viene oggi condensato sotto il termine di *microspettroscopia*.

Questo termine ha avuto negli anni seguenti una diffusione estrema, comprendendo vari tipi di applicazione, anche industriale. In questo ambito, pur nei limiti di un singolo esempio, vale la pena di menzionare alcune recenti applicazioni nel controllo di qualità di materiale cristallino. Tuttavia, in questa voce, pur facendo brevi menzioni dei diversi tipi di tecnologia che possono essere riferiti al termine generale di m., ci si limiterà a quelle applicazioni che concernono materiale biologico e, in particolare, lo studio di eventi intracellulari, che notevole interesse ha suscitato negli ultimi anni.

La m. risulta essere l'applicazione dei principi di spettroscopia e spettrofotometria (v. FOTOMETRIA, VI, 1943; SPETTROSCOPIA, XIV, 710) nel campo della microscopia ottica (v. MICROSCOPIA E MICROSCOPIO, IX, 1245), permettendo di effettuare misure spettroscopiche in singole cellule, o comunque in microcampioni, le cui dimensioni sono esclusivamente limitate dal grado di risoluzione spaziale della microscopia ottica. I costituenti basilari di un *microspettrofotometro* sono schematizzati in fig. 1. Poiché l'osservazione viene fatta mediante il rilevamento di opportuni segnali ottici provenienti da una singola cellula (*in toto* o in parti di essa), tale tecnologia permette di effettuare misure quantitative di eventi che hanno luogo in una cellula, minimizzando la perturbazione del sistema osservato e permettendo di differenziare la funzionalità fra entità distinte di una stessa popolazione cellulare. Inoltre, il raggio monocromatico analizzatore (fig. 1) può essere ridotto fino a dimensioni di ≈ 1-2 μm², il che permette eventualmente di effettuare misure in porzioni distinte della medesima cellula, valutando disomogeneità di segnale ed informazioni spaziali intracellulari (v. sotto).

Nonostante si tratti di una tecnologia di assai recente sviluppo, le applicazioni di carattere scientifico sono piuttosto numerose e rilevanti. Tuttavia, poiché in molti casi si tratta del connubio fra tecnologia industriale standardizzata e modificazioni di tipo individuale legate alle varie necessità sperimentali, la classificazione delle metodiche è difficile e spesso determinata dalle origini storiche.

### Micro(spettro)fluorimetria

L'applicazione riguarda il rilevamento di segnali fluorescenti, che possono essere sia intrinseci al sistema cellulare che collegati a molecole fluorescenti estranee (*sonde fluorescenti*). Un esempio classico del primo tipo è rappresentato dallo studio di eventi metabolici intracellulari, reso possibile dalla fluorescenza intrinseca dei nucleotidi piridinici (v. NUCLEOTIDI, X, 1297) nella forma ridotta (NAD e NADP). Infatti, questi componenti vanno incontro a numerosi cicli di ossidoriduzione (v.; X, 2187) durante gli eventi metabolici, rendendo possibile lo studio dell'effetto di substrati ed inibitori sulla velocità di tali processi.

Più recentemente, l'estrema varietà di sonde fluorescenti presenti sul mercato ha permesso di espandere sensibilmente il campo di osservazioni ad un'ampia gamma di eventi intracellulari. Particolare interesse è stato rivolto alle sonde fluorescenti che variano la loro intensità di emissione per effetto dell'interazione con ioni specifici, quali gli ioni $Ca^{2+}$, dei quali è nota l'estrema rilevanza nella regolazione di molte funzioni cellulari sia in condizioni fisiologiche che patologiche (v. CALCIO; CALCIO*). Oltre a semplici variazioni dell'intensità dell'emissione di fluorescenza, la analisi dell'immagine cellulare in presenza di tali sonde permette nell'ambito di una singola cellula di discriminare spazialmente gli eventi che si osservano, così da evidenziare dinamicamente distribuzioni disomogenee delle sostanze fluorescenti sotto osservazione. Un esempio in tal senso certamente degno di menzione è rappresentato da un recente studio sulle modificazioni ioniche dell'ambiente intracellulare di un uovo in seguito alla fecondazione, studio grazie al quale è stato possibile evidenziare una variazione della distribuzione spaziale di ioni $Ca^{2+}$, che è stata seguita nella sua evoluzione temporale grazie all'uso di queste tecniche microfluorimetriche.

La potenzialità di osservare individualmente le cellule di

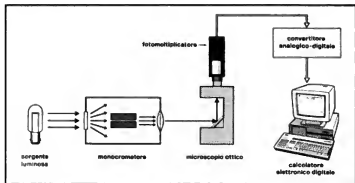



Fig. 1. Schema di un microspettrofotometro.

una popolazione omogenea permette inoltre di effettuare osservazioni quantitative di eventi non facilmente sincronizzabili, quali la mitosi cellulare, rendendo possibile la messa in evidenza di differenze funzionali fra varie cellule sottoposte ad un medesimo stimolo.

Oltre a misure dinamiche e funzionali, la tecnica microspettroscopica permette la descrizione morfologica di strutture intracellulari di adeguate dimensioni (cioè osservabili con la microscopia ottica) con l'importante vantaggio di compiere misure *in vivo*, senza alcuna procedura invasiva dell'integrità funzionale del sistema. Un esempio rilevante di tale applicazione è rappresentato dalla descrizione topografica di un cromosoma politenico di *Drosophila melanogaster* marcato con sonde fluorescenti. Tale approccio, che viene definito di *tomografia cellulare*, ha aperto, pur tra innumerevoli difficoltà tecniche, la possibilità di osservare direttamente in cellule viventi oltre ad aspetti morfologici, come la struttura cromosomale o la struttura del citoscheletro, anche l'evoluzione spaziale e temporale di eventi estremamente rilevanti nei quali queste strutture sono coinvolte, quali la mitosi o il trasporto intracellulare.

**Micro(spettro)fotometria in assorbimento**

Un'applicazione più limitata, almeno fino ad ora, concerne questa tecnica, e ciò va messo in relazione alla difficoltà di ottenere adeguati segnali di assorbimento ottico da una singola cellula; pertanto, l'indagine in questo campo è essenzialmente limitata al globulo rosso grazie alla notevole concentrazione intracellulare di emoglobina che garantisce un adeguato rapporto segnale-rumore. Un'ulteriore applicazione concerne l'utilizzo della variazione della diffusione della luce (*light scattering*), legata a cambiamenti della morfologia cellulare o dello stato di aggregazione di componenti od organelli intracellulari. Un contributo significativo in questo campo è venuto da indagini sul meccanismo patogenetico che è alla base delle manifestazioni patologiche circolatorie nei pazienti affetti da *anemia falciforme* (v. EMOGLOBINOPATIE, V, 1418). Infatti, la base molecolare di questa malattia va individuata nella presenza, all'interno dell'eritrocita, di una emoglobina mutante, l'*emoglobina S* ($\alpha_2\beta_2$6Glu → Val), caratterizzata da una solubilità estremamente ridotta in assenza di ossigeno. Quindi, il rilascio di $O_2$ a livello dei capillari sistemici, e la conseguente desossigenazione dell'emoglobina S, inducono una polimerizzazione intraeritrocitaria, da cui deriva la caratteristica deformazione cellulare a forma di falce. Tale evento conduce ad una alterazione drammatica delle proprietà reologiche dell'eritrocita che è alla base delle occlusioni circolatorie negli organi periferici, tipiche di questa patologia. L'uso della tecnica microspettrofotometrica ha permesso di effettuare misure quantitative della dinamica di polimerizzazione intracellulare, caratterizzando la distribuzione di questi tempi di polimerizzazione in popolazioni cellulari provenienti da diversi pazienti affetti da tale malattia. L'aspetto più immediato dell'indagine risiede nella eccellente correlazione fra la distribuzione dei tempi di polimerizzazione e la severità delle manifestazioni patologiche di questi pazienti (assai migliore della distribuzione relativa ai tempi di deformazione cellulare), che ha permesso di individuare nella polimerizzazione intracellulare l'elemento principale e scatenante delle crisi occlusive.

**Microfotolisi**

Tale applicazione si discosta significativamente dalle precedenti sia per la tecnologia impiegata sia per il tipo di informazione ottenibile. Questa tecnica è stata sviluppata per studiare la dinamica dei componenti delle membrane cellulari. Dopo aver marcato con una specifica sonda fluorescente il componente (sia lipidico che macromolecolare) che si vuole esaminare, una parte limitata della membrana viene illuminata per un breve intervallo di tempo da un *raggio laser* (di dimensioni subcellulari), che induce una fotodecomposizione della sonda fluorescente solo nell'area prescelta (*photobleaching*). Continuando ad effettuare la misura della fluorescenza caratteristica della sonda nell'area predetta, l'incremento del segnale è immediatamente correlabile alla velocità con cui altre molecole marcate diffondono nell'area provenendo da zone contigue della membrana. In questa maniera è stato possibile studiare la diffusione delle proteine e/o delle componenti fosfolipidiche della membrana e caratterizzarne gli aspetti dinamici, correlandoli alle diverse condizioni ambientali.

**Citometria a flusso**

Questa tecnologia può essere considerata ai limiti della definizione di m. fornita inizialmente. Essa infatti riguarda misure in fluorescenza di materiale in sospensione liquida. Il campione viene fatto fluire attraverso una microcamera di osservazione (praticamente un microscopio) illuminata da una sorgente laser. Il segnale è rappresentato dalla fluorescenza emessa da ciascuna cellula che viene individualmente illuminata, permettendo una valutazione rapida su un esteso numero di cellule. Ovviamente, tale metodica, differentemente da quelle precedentemente descritte, non può fornire informazioni specifiche sull'ambiente intracellulare, bensì risulta utile per un'analisi statistica sulla variabilità nell'ambito di popolazioni cellulari omogenee. Un utilizzo particolarmente frequente di tale metodologia è la valutazione del contenuto di DNA in diverse situazioni patologiche (es., tumori) e la correlazione di tale informazione con il grado di invasività e di gravità della neoplasia.

V. anche: CITOMETRIA A FLUSSO*; LASER*.

**Istofotometria**

Tale termine ha oggi un valore eminentemente storico in quanto si riferisce alle prime applicazioni di m. Esso concerne misure micro-densitometriche per valutare la quantità di sostanze marcabili con coloranti istologici. Tale approccio non concerne materiale biologico vivente bensì si riferisce ad una quantizzazione di osservazioni istologiche classiche.

**Altre metodiche microspettroscopiche**

Un ultimo breve commento viene fornito riguardo ad altre applicazioni microspettroscopiche che non concernono materiale biologico in senso stretto. Tra queste meritano una breve menzione:

a) *microinterferometria*: misura dello «spessore ottico» di campioni microscopici per valutare la massa e la quantità di determinate sostanze;

b) *micropolarimetria*: misura di diverse proprietà ottiche con luce planarmente o circolarmente polarizzata in campioni anisotropi. Un'applicazione importante di questo tipo di approccio, seppure solo parzialmente di pertinenza biomedica, si ha nel campo della chimica fisica con lo studio spettroscopico in singolo cristallo di macromolecole biologiche contenenti gruppi cromofori.

**Bibliografia**


Agard D. A., Sedat J. W., *Nature*, 1983, **302**, 676-681.

Antonini E., Brunori M., Giardina B., Benedetti P. A., Bianchini G., Grassi S., *FEBS Lett.*, 1978, **86**, 209-212.

Caspersson T., *Cell Growth and Cell Function*, 1950, Norton, New York.

Chance B., Perry R., Akerman L., Thorell B., *Rev. Sci. Instr.*, 1959, **30**, 735-748.






Digitized by Google

Coletta M., Hofrichter J., Ferrone F. A., Eaton W. A., *Nature*, 1982, **300**, 194-197.
Françon M., *Progress in Microscopy*, 9. *Modern Trends in Physiological Sciences*, 1961, Pergamon Press, London.
Gray P. ed., *The Encyclopedia of Microscopy and Microtechniques*, Van Nostrand Reinhold Co., London.
Gupte S., Wu E.-S., Hoechli L., Hoechli M., Jacobson K., Sowers A. E., Hackenbrock C. R., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1984, **81**, 2606-2610.
Hofrichter J., Eaton W. A., *Ann. Rev. Biophys. Bioengin.*, 1976, **5**, 511-560.
Kam Z., *Quart. Rev. Biophys.*, 1987, **20**, 201-259.
Kohen E., Thorell B., Kohen C., Michaelis M., in Thaer A. A., Sernetz M. eds., *Fluorescence Techniques in Cell Biology*, 1973, Springer-Verlag, Berlin, pp. 219-233.
Peters R., *Trends in Biochem. Sci.*, 1985, 223-227.
Tsien R. Y., Poenie M., *Trends in Biochem. Sci.*, 1986, 450-455.

MASSIMO COLETTA E PIER ALBERTO BENEDETTI

## MICROSPORIDIOSI

F. *microsporidiose*. - I. *microsporidiosis*. - T. *Microsporidiosis*. - S. *microsporidiosis*.

### Generalità

La microsporidiosi è un'infezione sostenuta da protozoi parassiti obbligati ed endocellulari, spesso definiti con il termine generico di *microsporidi*, appartenenti al *phylum Microspora*; le oltre 700 specie che lo costituiscono, distribuite in circa 80 generi, sono ampiamente diffuse in natura come agenti patogeni di numerosi organismi appartenenti alla maggior parte dei *phyla* degli invertebrati e a tutte le classi dei vertebrati.

A partire dalla fine degli anni '60, casi di m. sono stati individuati anche nell'uomo, con un incremento delle segnalazioni in tempi più recenti (dal 1985 in poi) soprattutto in soggetti affetti da AIDS (15 i casi sicuramente accertati in Europa, U.S.A., Sud America, Haiti e Uganda). L'agente etiologico principalmente riscontrato in questi pazienti è stato *Enterocytozoon bieneusi*, sebbene alcuni casi siano risultati legati alla presenza di *Encephalitozoon cuniculi*, ampiamente diffuso in diversi mammiferi, soprattutto carnivori, roditori e lagomorfi, e a quella di *Pleistophora* sp., generalmente parassita dei pesci. In pazienti non immunodeficienti (6 i casi descritti), oltre a 3 casi diagnosticati con la generica evidenziazione di forme di microsporidi, sono stati identificati come causa di malattia *Nosema connori*, comune parassita di insetti, e *E. cuniculi*. Il numero relativamente elevato di pazienti immunodeficienti colpiti rispetto ai soggetti normali risultati affetti da questa parassitosi permette di considerare questi protozoi come opportunisti.

#### Morfologia e biologia dei microsporidi

Le forme infestanti dei microsporidi sono rappresentate dalle *spore* che si sviluppano all'interno delle cellule dell'ospite (figg. 1, *A* e *B*; 2, *A*): esse hanno forma ovoidale o piriforme e dimensioni assai variabili nelle diverse specie (1-20 μm), risultando limitate a 1-5 μm in quelle parassite di mammiferi ed in particolare dell'uomo; sono dotate di una parete relativamente spessa e bistratificata (*strati eso-* ed *endosporiale*) e al loro interno, oltre al nucleo (talora 2, come nel genere *Nosema*) e al citoplasma, costituenti lo *sporoplasma infettante*, si individuano un vacuolo posteriore ed un peculiare *apparato di estrusione* necessario al parassita per colonizzare la cellula ospite; tale formazione appare formata da un filamento o tubulo polare avvolto su se stesso, strettamente connesso ad un disco di ancoraggio posto in posizione polare e sostenuto da un cospicuo corpuscolo a struttura lamellare (figg. 1, *A*; 2, *A*).

L'infezione dei possibili ospiti è essenzialmente di tipo oro-fecale ed avviene con l'ingestione delle spore microsporidiali: queste, nell'ambiente intestinale, stimolate dalle peculiari condizioni di pH e dalla concentrazione ionica del mezzo, attivano il loro *apparato di estrusione* estroflettendo dalla loro porzione anteriore il tubulo polare internamente compresso; dal corpo cellulare prende quindi forma verso l'esterno un lungo tubicino cavo che, con la sua estremità finemente cilindrica, entra in contatto con la superficie della cellula ospite, penetra al suo interno, consentendo il successivo passaggio dello *sporoplasma infettante* nel nuovo ambiente cellulare (figg. 1, *B*; 2, *B*, 2, *C*). Lo sporoplasma si moltiplica attivamente: in un primo momento attraverso ripetute divisioni binarie o multiple di tipo merogonico e successivamente attraverso fasi sporogoniche.

Con la divisione degli sporonti in sporoblasti e con la successiva divisione di questi si completa la maturazione di nuove spore (fig. 1, *B*). Tali formazioni, liberatesi in seguito alla distruzione della cellula ospite, sono in grado di colonizzare nuove cellule dello stesso tessuto o, dopo disseminazione per via ematica, linfatica o all'interno di macrofagi, dei più diversi organi, potendo provocare, tra l'altro, anche l'infezione di tipo transplacentare e transovarico. In una fase avanzata dell'infezione molte spore possono raggiungere l'ambiente esterno attraverso le feci, l'urina e la cute, rimanendo vitali anche per lunghi periodi di tempo (3-5 mesi).

Relativamente ai microsporidi riscontrati nell'uomo va sottolineato che, mentre le forme dei generi *Nosema* ed *Enterocytozoon*

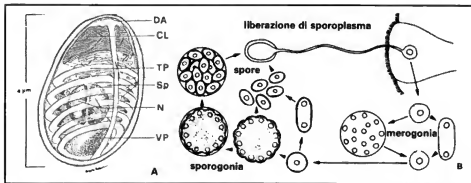



Fig. 1 Struttura di una spora (*A*) e ciclo riproduttivo dei microsporidi (*B*). CL = corpuscolo lamellare; DA = disco di ancoraggio; N = nuclei; Sp = sporoplasma; TP = tubulo polare; VP = vacuolo posteriore. (*A*: *da Mandell et al., 1990*; *B*: *da Parasitology Today, 1987*).



Digitized by Google

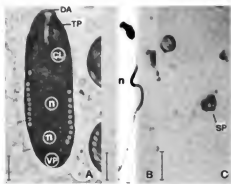



Fig. 2. Ultrastruttura di una spora matura (*A*) e (al microscopio ottico) attivata (*B* e *C*). CL = corpuscolo lamellare; DA = disco di ancoraggio; n = nuclei; SP = sporoplasma; TP = tubulo polare; VP = vacuolo posteriore. Il tratto verticale in *A*, corrisponde a 0,5 μm, in *B* e *C* a 10 μm. (*Da Parasitology Today, 1987*).

vivono in diretto contatto con il citoplasma della cellula ospite, quelle del genere *Pleistophora* sono delimitate da una membrana pansporoblastica prodotta dal parassita per separarsi progressivamente dalle strutture della cellula ospite e quelle del genere *Encephalitozoon* si ritrovano invece all'interno di un vacuolo citoplasmatico delimitato da una singola membrana, questa volta prodotta dall'ospite per circoscrivere il parassita.

**Aspetti clinici**

Sulla base dei dati riportati in letteratura, il quadro clinico della m. si presenta notevolmente differenziato in relazione alla localizzazione dei diversi agenti etiologici ed alla capacità da parte del paziente di saper attuare una adeguata risposta immune cellulomediata.

Sebbene la prima sede di infezione sia in genere quella intestinale, forme dei diversi parassiti sono state evidenziate nei più diversi organi. In un caso di m. da *E. cuniculi* ad es. l'infezione culminava con l'invasione del rene e del

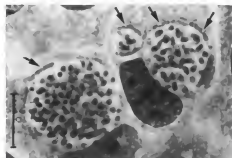



Fig. 3. *Encephalitozoon cuniculi*: vacuolo parassitoforo con stadi sporogonici del parassita in cellule infestate. Le *frecce* indicano meronti allungati formanti la parete del vacuolo (colorazione Giemsa). Il tratto verticale corrisponde a 10 μm. (*Da Parasitology Today, 1987*).

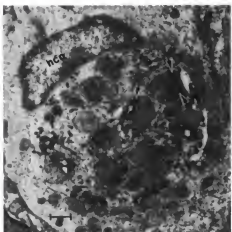



Fig. 4. Ultrastruttura di uno sporonte di *Enterocytozoon bieneusi*. Il tratto orizzontale corrisponde a 1 μm. Le *frecce* indicano i dischi elettrondensi condensati precursori del tubulo polare. nco = nucleo della cellula ospite. (*Da Parasitology Today, 1987*).

cervello provocando una grave forma di nefrite interstiziale e una vasculite cerebrale diffusa, con manifestazione nel paziente di febbri ricorrenti, forti mal di testa, perdita della conoscenza e convulsioni.

Il quadro clinico causato da *N. connori* in un bambino di quattro anni, affetto, tra l'altro, da aplasia timica, era invece caratterizzato da grave ed incontrollabile diarrea associata ad una condizione di malassorbimento, mentre l'indagine autoptica rivelava la presenza dei microsporidi in numerosi organi e tessuti (fegato, polmone, muscoli e miocardio, stomaco, intestino tenue e crasso, reni).

In altre segnalazioni (Current e Owen, 1989), microsporidi non meglio identificati, rinvenuti essenzialmente nell'apparato visivo, erano causa di cheratiti, anche ulcerose, e di iriti.

Nel caso di infezioni sostenute da *E. bieneusi*, essenzialmente nei soggetti affetti da AIDS, il danno esercitato dal parassita appariva limitato all'intestino, ma era talmente grave ed esteso da causare una grave forma di diarrea, talora devastante e non trattabile, causa di notevole perdita di peso e consunzione del paziente. In queste infezioni i parassiti abbondano nei tessuti, spesso necrotici, senza essere in grado di evocare una risposta infiammatoria. Quando possibile, è dimostrabile a livello delle lesioni di tipo granulomatoso, un modesto infiltrato mononucleare, costituito da linfociti e macrofagi.

Sempre in un paziente immunodeficiente, infine, microsporidi del genere *Pleistophora*, identificati esclusivamente nel tessuto muscolare, avevano dato luogo ad una grave miosite, associata a febbre elevata e linfadenopatia.

**Diagnosi e terapia**

La diagnosi della m. si basa quasi esclusivamente sulla ricerca e sull'identificazione dei protozoi nei tessuti parassitati, per cui nei casi sospetti diviene indispensabile ricorrere all'esame istologico di un frammento bioptico, prefe-





Digitized by Google

ribilmente di intestino tenue, che, come accennato, risulta l'organo prioritariamente aggredito. È opportuno tuttavia che lo studio dei preparati venga effettuato con l'ausilio del microscopio elettronico in quanto non sempre l'osservazione dei campioni al microscopio ottico, dopo colorazione con Giemsa, fucsina basica, blu di metilene e azzurro II (fig. 3), consente un'idonea osservazione dei protozoi, ben distinguibili invece a livello ultrastrutturale (fig. 4). In relazione alle diverse localizzazioni dei protozoi, la diagnosi può essere effettuata anche rinvenendo forme di microsporidi, ad es., nel sedimento urinario o nel liquido cerebrospinale.

L'utilizzo di tecniche sierologiche (ELISA, immunofluorescenza indiretta, etc.) è al momento attuabile soltanto nei confronti di *E. cuniculi*; peraltro indagini di questo tipo, sulla base delle positività riscontrate, hanno permesso di ipotizzare nell'uomo la presenza di un discreto numero di infezioni latenti o clinicamente silenti.

Allo stato attuale non si dispone di farmaci da utilizzare per un efficace trattamento della m., sebbene sostanze come la clorochina fosfato e la fumagillina abbiano dimostrato un'attività inibitoria sulla crescita di *E. cuniculi* in cellule di cultura, e farmaci come la pirimetamina, il metronidazolo e il trimetoprim-sulfametossazolo abbiano dimostrato una certa efficacia in alcuni pazienti trattati.

**Bibliografia**

Canning E. U., Hollister W. S., *Parasitol. Today*, 1987, **3**, 267.
Canning E. U., Lom J., *The Microsporidia of Vertebrates*, 1986, Academic Press, London.
Current N. L., Owen R. L., *Cryptosporidiosis and Microsporidiosis*, in Farthing M. J. G., Keusch G. T. eds., *Enteric Infection: Mechanisms, Manifestation and Menagement*, 1989, Chapman and Hall Medical, London, pp. 223-49.
Mandell G. L., Douglas G. R., Bennett T. E., *Principles and Practice of Infectious Disease*, 1990, 3 ed., Churchill Livingstone, New York, Edinburgh.
Shadduck J. A., *Rew. Infect. Dis.*, 1989, **2**, 203.

GIANFRANCO BORTOLETTI

## MICROTUBULI

F. *microtubules*. - I. *microtubules*. - T. *Mikrotubulus*. - S. *microtubulos*.

I microtubuli sono strutture tubulari cave, del diametro esterno di 28 nm, la cui parete è composta da 13 protofilamenti associati tra loro; ogni protofilamento è, a sua volta, composto dal monotono ripetersi di due proteine, la tubulina α e la tubulina β, in rapporto tra loro secondo una interazione del tipo «testa-coda» (fig. 1). Alle tubuline si associano, nella costituzione dei m., altre famiglie di proteine meno abbondanti e poco caratterizzate.

I m. costituiscono, insieme ai microfilamenti di actina e ai filamenti intermedi, il *citoscheletro cellulare*, cioè l'impalcatura filamentosa che conferisce alle cellule eucariotiche la loro forma, ne rende possibili il movimento, la mitosi e numerose funzioni specifiche, quali l'eso-endocitosi, la formazione e il movimento di ciglia e flagelli, la crescita dell'assone e il flusso di vescicole al suo interno.

Occorre tener presente che, nella cellula, solo il 50% circa della tubulina è polimerizzato in m., mentre la restante parte si trova nel citoplasma in forma solubile, non aggregata. Ciò fa sì che i m. costituiscano strutture dinamiche, che con relativa frequenza vengono riorganizzate in modo da rispondere adeguatamente alle specifiche esigenze di ogni dato momento della vita cellulare.

Ad es., ogni volta che una cellula entra in mitosi, la tubulina organizzata nei m. che costituiscono il citoscheletro si depolimerizza rapidamente (il che porta le cellule in mitosi ad assumere una forma sferica), e altrettanto rapidamente polimerizza per formare le fibre del fuso mitotico, struttura che permetterà la separazione dei cromosomi in anafase.

Sfruttando il fatto che la polimerizzazione della tubulina si verifica anche in provetta, sono stati effettuati *in vitro* numerosi studi atti a comprendere meglio i meccanismi che controllano tale fenomeno *in vivo*. È oggi noto che i m.

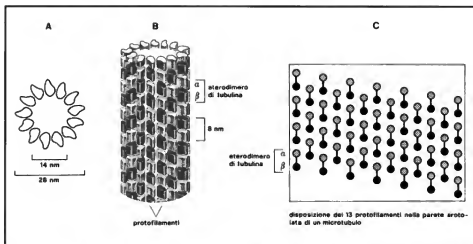



Fig. 1. Schema di un m. e della sua struttura sopra-molecolare. *A*) I 13 protofilamenti in sezione trasversale. *B*) Un breve tratto di un m. visto di lato, con i protofilamenti che mostrano l'alternarsi di tubulina α e β. *C*) Un segmento di parete srotolata per indicare la disposizione elicoidale degli eterodimeri di tubulina α-β. (*Ridisegnata in base ai dati di L. Amos*).



Digitized by Google

polimerizzano a temperatura fisiologica (37 °C) e depolimerizzano a freddo (4 °C); la presenza di guanosintrifosfato (GTP) e ioni magnesio stimola il processo di polimerizzazione mentre gli ioni calcio favoriscono la depolimerizzazione; inoltre, antimitotici quali la colchicina e il taxolo possono interferire in vario modo con tali processi. In particolare, la colchicina si lega strettamente al dimero di tubulina, impedendone così la polimerizzazione; viceversa il taxolo determina la polimerizzazione «forzata» della tubulina libera e la stabilizzazione di quella organizzata. In entrambi i casi, la compromissione dell'equilibrio dinamico normalmente esistente tra i processi di polimerizzazione e depolimerizzazione porta alla morte cellulare.

Gli studi *in vitro* hanno anche dimostrato che l'orientamento specifico dei dimeri di tubulina nei protofilamenti e la particolare disposizione che questi ultimi assumono nei m., rendono il polimero di tubulina una struttura polare. A causa di tale polarità, l'accrescimento dei m. non ha luogo con uguale velocità alle due estremità; infatti una delle due, definita (+), si accresce per addizione di nuove molecole di tubulina tre volte più rapidamente dell'altra, definita (−). Questa estremità è generalmente ancorata a particolari strutture a localizzazione perinucleare, denominate «centri di nucleazione», costituite da una coppia di centrioli circondati da materiale proteico non geometricamente strutturato.

Sperimentalmente, tutti i m. di una cellula possono essere depolimerizzati utilizzando la colchicina; quando quest'ultima viene eliminata, la cellula può nuovamente ripolimerizzare i suoi m. Questi iniziano la loro formazione da uno o più centri di nucleazione e si accrescono poi in molteplici direzioni, dando luogo a formazioni intermedie che, colorate con anticorpi anti-tubulina fluorescenti, appaiono come stelle e pertanto sono definite «aster». La polimerizzazione dei m. continua finché essi assumono la loro disposizione definitiva, addensandosi a ridosso del nucleo e irradiandosi verso la periferia cellulare.

Si ritiene che anche i flagelli, le ciglia, i neurotubuli degli assoni e le fibre del fuso mitotico originino dai centrioli con un meccanismo analogo in cui l'estremità (−) è ancorata al centriolo e l'estremità (+) si accresce allontanandosi da questo.

La tubulina è un dimero del peso molecolare complessivo di circa 100.000 d e il peso di ogni subunità è di circa 50.000. Poiché la tubulina non è ancora stata cristallizzata, non se ne conosce in dettaglio la struttura molecolare. Dati recenti indicano l'esistenza nei vertebrati di diversi geni per le tubuline α e β e ciò ha posto il problema se le varie tubuline, tutte estremamente simili tra loro, possano svolgere nella cellula ruoli diversi.

Strettamente associate alle molecole di tubulina, esistono poi altre due famiglie di proteine: le proteine τ (tau) e le MAP (*microtubule associated proteins*), che si legano ad alta affinità alla tubulina purificata e presumibilmente ne facilitano il processo di polimerizzazione. Ciò fu scoperto osservando che la tubulina purificata è capace di formare filamenti *in vitro*, ma solo con estrema lentezza; al contrario, preparazioni di tubulina contenenti altre proteine (appunto le proteine τ e MAP) formano filamenti *in vitro* con velocità estremamente maggiore.

Le proteine MAP costituiscono un gruppo eterogeneo, di alto peso molecolare (200.000-300.000), ancora in corso di caratterizzazione; probabilmente la loro funzione è quella di collegare i m. alle altre strutture che compongono il citoscheletro. Le proteine τ, che sono più piccole (60.000-70.000) e possono legarsi solo alle molecole di tubulina, possiedono caratteristiche biochimiche che le rendono simili all'elastina.

**Bibliografia**

Alberts B. *et al.*, *The Molecular Biology of the Cell*, 1989, Chapter 11, Garland, New York, pp. 652-661.
Matus A., *Curr. Opin. in Cell Biol.*, 1990, Vol. 2 (n. 1), 3-9.
Vale D. R., *Curr. Opin. in Cell Biol.*, 1990, Vol. 2 (n. 1), 10-14.

GIULIO COSSU

## MIDODRINA

F. *midodrine*. - I. *midodrine*. - T. *Midodrin*. - S. *midodrina*.

Profarmaco di un'amina simpaticomimetica strutturalmente analoga alla metossamina, la midodrina risulta dalla combinazione, per legame carboamidico, della deglimidodrina (DM) con la glicina. Priva di attività biologica propria (*in vitro* la m. è 15 volte meno attiva della DM), la m. viene rapidamente assorbita dopo assunzione orale con una biodisponibilità (valutata in termini del suo metabolita attivo) superiore al 90%. Nel sangue il legame carboamidico della m. viene scisso ad opera degli enzimi circolanti con liberazione della DM che differisce dalla metossamina per la catena laterale etanolaminica in luogo di quella isopropanolaminica. La rapida metabolizzazione della m. dà ragione della sua breve emivita (circa 30 min) che contrasta con quella più prolungata (circa 3 ore) della DM, la quale risulta ancora presente in circolo 10 ore dopo l'assunzione orale.

La DM viene in larga parte eliminata come tale per via renale (circa l'80% della dose entro 5 giorni dalla somministrazione). Gli effetti biologici del metabolita attivo della m. sono quelli di un simpaticomimetico a prevalente azione alfa stimolante: vasocostrizione del sistema arteriolare e di quello venoso di capacità, con scarsi effetti stimolanti cardiaci. Sul piano emodinamico ne deriva un aumento della pressione arteriosa accompagnato da bradicardia di origine riflessa con conseguente riduzione della gettata cardiaca.

Priva di sostanziali effetti sul metabolismo lipidico e glicidico, la DM, come tutti i composti fortemente polari, supera con difficoltà la barriera ematoencefalica e, di conseguenza, ha scarsa o nulla attività stimolante centrale. Per queste sue caratteristiche la m. è stata utilizzata nella terapia dell'ipotensione ortostatica anche in alcuni studi controllati di confronto con altri farmaci classicamente impiegati in questa sindrome.

L'attività terapeutica della m. (3-30 mg/*die per os*) è risultata equivalente a quella dei derivati dell'ergot (in particolare la diidroergotamina) e superiore a quella del fludrocortisone anche se accentuata dall'associazione con quest'ultimo. Nei confronti dei simpaticomimetici più frequentemente usati (dimetofrina, efedrina, etilefrina, norfenefrina) la m., pur avendo gli stessi effetti sui livelli pressori in clino- e in ortostatismo, è risultata più efficace nell'attenuare la sintomatologia della sindrome ortostatica (astenia, pallore, sonnolenza, sudorazione, cefalea). La possibilità che altri fattori, accanto all'aumento del tono vascolare periferico, svolgano un ruolo nel meccanismo di questi effetti terapeutici non impedisce di collocare la m. al terzo livello nello schema a gradini proposto per la terapia dell'ipotensione ortostatica. Partendo da provvedimenti di carattere meccanico (bendaggio elastico degli arti inferiori e dell'addome), questo schema prevede una successione di interventi tendenti ad aumentare la massa circolante (fludrocortisone), a incrementare il tono vascolare periferico (vasocostrittori), ad aumentare infine la gettata cardiaca (dopamina e derivati).

L'uso della m. è comunque controindicato nei soggetti con insufficienza coronarica e in quelle forme di ipotensione ortostatica nelle quali la pressione arteriosa in clinostatismo è ampiamente oscillante e presenta occasional-





Digitized by Google

mente puntate ipertensive in episodi talora giornalieri, talora distanziati.

Modesti gli effetti indesiderati a carico della funzione termoregolatrice (piloerezione, brividi, formicolio agli arti) e dei sistemi gastrointestinale (nausea, gastralgie, stomatiti), cardiovascolare (ipertensione clinostatica, tachi- o bradicardia) e nervoso centrale (cefalea, vertigini, irrequietezza).

Meno estesa risulta la documentazione sull'impiego terapeutico della m. nella discussa sindrome dell'ipotensione arteriosa costituzionale.

**Bibliografia**

Bannister R., *Autonomic failure*, 1983, Oxford University Press, Oxford, pp. 316-334.
McTavish D., Goa K. L., *Drugs*, 1989, **38**, 757-777.
Pemberton J., *Br. Med. J.*, 1989, **298**, 660-662.

AMILCARE CARPI DE RESMINI

**MIDOLLO OSSEO** [v. vol. IX, col. 1279]

## TRAPIANTO

SOMMARIO



### Introduzione

Il trapianto di organi (rene, fegato, cuore, polmoni) è una conquista delle scienze medico-chirurgiche, ma quello del midollo ematopoietico, ossia produttore delle cellule del sangue, è una scoperta biologicamente ancora più complessa e ricca di insidie e di difficoltà. Si deve precisare che non si tratta tanto di sostituire un organo irrimediabilmente ammalato, come nel caso dei trapianti di organo, ma di neutralizzare determinate insufficienze sia ematologiche che immunitarie, o di puntare verso la guarigione di malattie tumorali del sangue e del midollo, come per le leucemie. I fattori che hanno contribuito a proiettare il trapianto di midollo verso l'incessante incremento attuale sono molti, ma assolutamente determinanti sono stati tre: 1) la maggior conoscenza del sistema maggiore di istocompatibilità (MHC), che nell'uomo ha preso la denominazione di HLA (*Human Lymphocyte Antigens System A*), essendo gli antigeni del sistema espressi e reperibili sui linfociti; 2) il perfezionamento della terapia di supporto, che consente la sopravvivenza del paziente per tutto il periodo in cui le sue difese ematologiche ed immunitarie sono ridotte a zero; 3) la messa a punto di procedimenti immunosoppressivi e «mieloablativi» tali da sopprimere sia le difese immunologiche del ricevente nei confronti del midollo infuso sia quelle di quest'ultimo nei confronti del ricevente, nonché la distruzione del midollo patologico del ricevente.

Nel 1950 Egon Lorenz che ben conosceva l'effetto aplastizzante, ossia distruttivo, delle radiazioni ionizzanti sia sull'uomo (cfr. la tragica esperienza delle bombe atomiche su Hiroshima e Nagasaki, e su scala minore quella di Chernobyl [v. ATOMICA ENERGIA, LESIONI DA*]) sia sull'animale, scriveva alla sua collaboratrice Uphoff: «dovremmo provare a iniettare midollo normale endovena agli animali». Fu così che si dimostrò che un topo trapiantato con il midollo di un altro topo istocompatibile assumeva l'ematopoiesi di quest'ultimo, e che le cellule staminali ematopoietiche sono in grado di migrare nel midollo del ricevente, come vedremo meglio in seguito.

Nel 1957 venivano effettuati i primi trapianti midollari nell'uomo. Nel 1959 vi fu il noto tentativo di George Mathè di curare con infusioni di midollo i sei scienziati jugoslavi vittime dell'incidente atomico di Vinca; esperienza che venne ripetuta con insuccessi consimili, trent'anni dopo, in occasione dell'incidente di Chernobyl. I primi trapianti midollari coronati da successo furono effettuati nel 1968 da Bach e da Gatti per immunodeficienze gravi. Oggi possiamo dire che alla fine del 1990 il numero complessivo dei trapianti allogenici nel mondo supera i 25.000, mentre l'*International Bone Marrow Transplant Registry* (IBMTR) (Bortin M. M., 1991) ne annovera più di 10.000, corredati di tutti i dati necessari ed utilizzabili per i vari studi statistici. Solo in Europa nel 1989 sono stati eseguiti 3100 trapianti. La frequenza dei trapianti di m. o. supera i 5000 per anno in oltre 250 Centri in tutti i continenti. Mentre, prima del 1980, il 72% dei trapianti di m. o. era effettuato in pazienti affetti da malattie non oncoematologiche, oggi il 77% viene eseguito in affezioni maligne, principalmente nelle leucemie. Nonostante i perduranti problemi e difficoltà, non c'è dubbio che tale incremento esprima e rifletta l'impatto della metodica su uno spettro esteso di condizioni morbose gravissime, quali le leucemie. Oltre all'IBMTR si devono ricordare il gruppo Europeo per il Trapianto di Midollo (EBMT), che raggruppa 104 Centri di 21 paesi europei ed i vari Gruppi Cooperatori a carattere nazionale (GEGMO per la Francia, NORDIC per i Paesi Scandinavi, GITMO per l'Italia).

### Vari tipi di trapianto di midollo osseo

Si devono distinguere due tipi fondamentali di trapianto di m. o.: quello in cui esso proviene da un donatore, e quello in cui il paziente, in condizioni del tutto particolari, funge da donatore di se stesso (trapianto *autologo*). Quest'ultimo è valido esclusivamente per le leucemie acute, i linfomi maligni e pochi altri tumori diffusi, e richiede una remissione completa, ossia una normalizzazione totale del midollo del paziente (leucemie) ovvero una persistente normalità dello stesso (linfomi).

Il midollo prelevato da un donatore può a sua volta provenire da gemelli monozigotici (trapianto *singenico*) o da altre tre categorie di donatori, unite dalla denominazione di trapianto *allogenico*. Tuttavia si devono effettuare ancora almeno tre distinzioni fondamentali tra fratelli HLA-identici (v. oltre), fratelli non HLA-identici e donatori non famigliari HLA-identici, noti come MUD (*Matched Unrelated Donors*). Esistono infatti situazioni morbose nelle quali è imperativo poter disporre di cellule staminali sane, e quando non è reperibile un donatore famigliare si deve fare ricorso alle Banche internazionali di midollo, di cui daremo un cenno dopo avere brevemente elucidato l'immunologia dei trapianti (Marmont A. M., 1989).

### Aspetti immunologici

Tutti conoscono i sistemi, già abbastanza complicati, dei gruppi sanguigni, che presiedono alle procedure trasfusionali; tuttavia, quando si passa ai trapianti d'organo e/o di tessuti, come nel caso delle cellule nucleate midollari, interviene un sistema di geni strettamente collegati noto collettivamente come MHC (*Major Histocompatibility Com-*



Digitized by Google

*plex*), e, nell'uomo, HLA (*Human Lymphocyte System A*) localizzato sul cromosoma 6 (v. HLA*; ISTOCOMPATIBILITÀ*). L'identità HLA fra la coppia donatore-ricevente è un requisito fondamentale per la presenza nell'espianto midollare (a differenza degli organi solidi) di cellule immunologicamente competenti, essenzialmente i linfociti T; i fenomeni di incompatibilità e di aggressione immunologica si possono verificare nelle due manifestazioni opposte del rigetto e della malattia trapianto contro ospite o *Graft versus Host Disease* (GvHD) (Burakoff S., 1990). Entrambi possono essere mortali, aumentano di gravità proporzionalmente all'incremento delle diversità immunologiche, ma possono verificarsi anche fra coppie HLA-identiche per la presenza di antigeni di istocompatibilità cosiddetti minori.

**Trapianto di midollo osseo da donatore compatibile non consanguineo**

Poiché la probabilità di avere un germano (fratello, sorella) HLA-identico è dell'ordine del 25% per ognuno, si vede da questo punto di vista, quasi paradossalmente, penalizzato proprio quel mondo occidentale che ha realizzato il trapianto, ma nel quale si è andata riducendo la natalità. È pertanto spesso necessario ricorrere alla ricerca di un MUD ricorrendo all'organizzazione *Bone Marrow Donors Worldwide*, coordinata da van Rood.

Il trapianto di m. o. da donatore compatibile non consanguineo (MUD) è un problema complesso che presuppone:

a) la costituzione e l'aggiornamento di una «banca dati» dei donatori di midollo;

b) indicazioni precise di eligibilità per i pazienti;

c) un preciso controllo per avviare e proseguire la ricerca donatori;

d) un'analisi dei problemi tecnici trapiantologici e dei risultati raggiunti.

1. *Registri donatori.* – Sono nati spontaneamente circa 15 anni fa, prima a Londra (Nolan Foundation), poi in America (Caitlin Registry) e quindi in Francia (GMFT). Oggi, grazie a van Rood, tutti i registri del mondo sono raccolti in quello che viene definito il *Bone Marrow Donors World Wide* (BMDWW), che è un vero e proprio Registro Mondiale. Il BMDWW si estrinseca nella pubblicazione di un libro, aggiornato ogni 4 mesi, contenente le tipizzazioni HLA dei donatori (oggi oltre 500.000).

2. *Indicazioni alla ricerca di un donatore non consanguineo.* – Il gruppo italiano trapianti (GITMO) ha stilato una lista di indicazioni in questo senso dividendo le patologie in: *a*) quelle che sicuramente si giovano del trapianto, non hanno alternative terapeutiche ed hanno una aspettativa di vita breve; *b*) quelle nelle quali il trapianto è potenzialmente utile; *c*) quelle nelle quali il trapianto non è utile.

3. *Requisiti e test di compatibilità.* – I requisiti minimi di compatibilità donatore/ricevente sono: *a*) *identità* HLA A e B; *b*) *identità* DR; *c*) *identità* in coltura mista linfocitaria (MLR).

I test consigliati per confermare la compatibilità sono: *a*) *analisi frequenza cellule T citotossiche specifiche in MLR secondaria*; *b*) *analisi a livello del DNA* per confermare l'identità DR.

In Italia il Registro Nazionale che fa capo al laboratorio di tipizzazione tessutale dell'Ospedale Galliera di Genova, ha fino ad oggi tipizzato 5000 donatori.

Va comunque rilevato che non è facile reperire un donatore, le probabilità che esista una compatibilità tra non consanguinei è di 1 a 100.000. È stato calcolato che una lista di 900.000 volontari assicurerebbe un donatore al 90% dei potenziali riceventi. È in corso uno studio internazionale sui trapianti da donatori non consanguinei (*International Unrelated Search and Transplant: IMUST*), che ha raccolto poco meno di 500 casi. Nei prossimi due/tre anni si avrà un aumento considerevole dei trapianti MUD: soltanto se i risultati saranno incoraggianti potremo giustificare il grande sforzo internazionale con investimenti di risorse tecniche, umane e finanziarie.

**Metodologia**

Il prelievo della sospensione ematomidollare dal donatore viene effettuato per mezzo di una serie di punture aspirative in corrispondenza della cresta iliaca posteriore e del massiccio sacrale. Essa viene raccolta in contenitori di vetro sterile, e quindi trasferita in una sacca di plastica ed infusa endovena. La quantità di m. o. da prelevare è di circa 20 ml per chilogrammo di peso corporeo del ricevente (Champlin R., 1990).

Le complicazioni a carico del donatore sono fortunatamente rarissime e mai gravi; sul piano medico-legale la procedura viene equiparata alla donazione di sangue, anziché d'organo, poiché manca la connotazione di mutilazione permanente. È indispensabile sottolineare che però tale prelievo viene effettuato al donatore in anestesia generale dopo averne accertata l'idoneità fisica.

Il fenomeno per cui le cellule staminali, sia allogeniche che autologhe, sono in grado, dopo aver circolato per tutto l'organismo, di riconoscere il microambiente midollare e di insediarsi stabilmente per iniziare la neoematopoiesi è certamente uno dei capitoli più affascinanti dell'ematologia (Marmont A. M., 1989). Esso è stato denominato *homing*, ma non dobbiamo pensare che esse si dirigano intenzionalmente verso il midollo come colombi viaggiatori che tornano al nido. La verità è che queste cellule *riconoscono* il nido allorché la corrente sanguigna le veicola attraverso i capillari midollari, noti come sinusoidi; qui si svolge un misterioso colloquio cellulare tenuto da molecole specializzate, e le cellule obbediscono al comandamento biologico: *fermati e prolifera*. È così che da pochissime cellule, talora persino — e sembra incredibile — da una sola, rinascono midollo e sangue del donatore, e si forma una chimera immunologica.

**Aspetti biologici**

Gli aspetti biologici del trapianto di m. o. riguardano principalmente tre tipi di cellule che vengono infuse nel ricevente: i linfociti T del donatore; le cellule staminali emopoietiche; le cellule staminali linfoidi.

Il midollo infuso contiene circa 10-20% di linfociti T che sono responsabili dell'insorgenza della GvHD (v. sotto), ma probabilmente anche dell'attività anti-leucemica del trapianto. Il ricevente, invece, possiede linfociti e altre cellule accessorie in grado di rigettare il midollo trapiantato.

Per ovviare a questi due problemi (GvHD o reazione donatore contro ricevente e «rigetto» o reazione ricevente verso donatore [v. TRAPIANTI; TRAPIANTI*]), occorre creare le condizioni perché si stabilisca una tolleranza fra midollo infuso ed ospite. A questo scopo occorre: *a*) immunosopprimere il ricevente per consentire l'attecchimento emopoietico e *b*) prevenire le reazioni immunologiche donatore contro ospite.

Numerosi esperimenti suggeriscono che le cellule staminali sono rappresentate nel m. o. con la frequenza di $1 \times 10^5$ cellule, tuttavia non è ancora chiara l'efficienza del loro attecchimento: in alcuni casi infatti è stata dimostrata l'origine clonale dell'emopoiesi post trapianto, suggerendo così che poche (alcune o addirittura una sola) cellule staminali siano capaci di dare origine alla emolinfopoiesi nel contesto di un ricevente allogenico.





Digitized by Google

Questo potrebbe far pensare che sia sufficiente infondere un basso numero di cellule nucleate (generalmente si trasfondono $3 \times 10^8$ cellule nucleate/kg del ricevente), perché l'attecchimento sia garantito. In realtà esperimenti nel topo hanno dimostrato che sebbene occorrano solo $10^5$ cellule midollari per ricostituire un animale irradiato, ne sono necessarie almeno $5 \times 10^7$ per conferire a tale animale la capacità di essere a sua volta donatore per un secondo ricevente (concetto della immortalità della cellula staminale). L'attecchimento necessita inoltre di fattori di crescita che vengono in genere prodotti dalle cellule stromali. Poiché è stato dimostrato che le cellule stromali midollari continuano ad essere quelle del ricevente (Simmons *et al.*, 1987) il condizionamento pre-trapiantologico può spesso ridurre la loro capacità di dare supporto alla proliferazione ed alla differenziazione delle nuove cellule staminali.

In queste condizioni, può essere vantaggioso, soprattutto negli autotrapianti, somministrare fattori di crescita esogeni (G-CSF, GM-CSF) che portano ad una rapida normalizzazione dell'emopoiesi.

L'attecchimento del compartimento linfoide è seguito da una ricapitolazione della normale ontogenesi immunologica.

Precocemente dopo trapianto sono stati trovati linfociti T positivi sia per l'antigene CD1 (timico) che doppiamente positivi (CD4/CD8). Linfociti T fenotipicamente maturi in genere circolano nel sangue periferico da due a sei mesi dopo trapianto di m. o. ed il tempo della loro comparsa dipende dall'età del ricevente e dalla presenza o meno di GvHD.

La maturità funzionale viene raggiunta ancora più tardi; infatti mentre precocemente sono presenti linfociti T antigene o mitogeno-specifici, manca la sottopopolazione che produce IL-1 e risulta dilazionata la capacità di produrre anticorpi anticarboidrati (che proteggono l'organismo dai patogeni respiratori provvisti di capsula).

Il paziente sottoposto a trapianto di m. o. allogenico presenta quindi una immunodeficienza grave combinata (simil-AIDS) con deficit funzionali T e B: basti ricordare che, nonostante un numero normale di cellule CD3+ circolanti nel sangue periferico, il numero di linfociti in grado di esprimere enzimi idrolitici in citoplasma (alfa-naftil-acetato-esterasi, segno di maturità funzionale del linfocito) è meno del 10% del normale.

**Condizionamento e complicazioni**

Un aspetto fondamentale del trapianto di m. o. è costituito dal cosiddetto *condizionamento*, che raccoglie una serie di procedure pre-trapiantologiche intese a sopprimere la reattività immunologica del ricevente nei confronti del midollo del donatore (reattività presente anche nel caso di fratelli HLA-identici, ed assente solo nei gemelli) nonché ad eliminare (si parla appunto di procedimenti *mieloablativi*) il midollo patologico del ricevente (tab. I). Questa seconda parte è particolarmente importante nel caso delle leucemie, dove è necessario tentare di eliminare la cosiddetta malattia residua minima o MRD. Il farmaco di scelta per l'immunosoppressione pretrapiantologica è la ciclofosfamide, largamente impiegata in oncologia medica, che viene somministrata a dosi elevatissime, tali da rendere necessario l'inserimento di un altro farmaco, il Mesna (v.*), per neutralizzare la tossicità a livello vescicale. Ma non basta; per distruggere la MRD viene successivamente impiegata anche l'irradiazione totale corporea o TBI (*Total Body Irradiation*), ma sono comuni anche combinazioni di soli farmaci. Un'altra modalità di manipolazione immunologica deve essere effettuata dopo il trapianto, per opporsi ai due

**TAB. I. FATTORI CHE INFLUENZANO L'ATTECCHIMENTO**

| in senso positivo | in senso negativo |
|---|---|
| molte cellule midollari infuse | poche cellule midollari infuse |
| infusione cellule staminali del sangue periferico e linfociti del donatore | T-deplezione |
| nessuna trasfusione | trasfusioni |
| aumentata immunosoppressione | |
| chemioterapia | solo ciclofosfamide |
| sieroterapia | |
| radioterapia | |
| identità HLA | parziale incompatibilità HLA |

**TAB. II. COMPLICAZIONI DA CONDIZIONAMENTO**

| Precoci | Tardive |
|---|---|
| Mucositi | Ipofunzionalità gonadica |
| Cistiti | Ipofunzionalità endocrina |
| Nefropatie | Anomalie in crescita e sviluppo |
| Cardiopatie | Cataratta |
| Problemi neurologici | Problemi neurologici |
| Malattia epatica veno-occlusiva | Tumori secondari |

fenomeni alternativi del *rigetto*, mediato dai linfociti T del ricevente che sono sopravvissuti al condizionamento, e della GvHD, a sua volta mediata dai linfociti T del midollo infuso nei confronti di molti tessuti (cute, fegato, intestino) del ricevente. Le complicazioni del trapianto sono molte e tutte serie, ma la GvHD è la più grave ed è non raramente mortale (v. sotto, col. 5128-5130). Il farmaco che viene attualmente impiegato per controllare entrambe tali reazioni è un prodotto biologico di origine fungina, la ciclosporina (v.*), utilizzata anche nella cura delle malattie autoimmuni. Si profilano inoltre all'orizzonte nuovi farmaci immunosoppressori come lo FK-506 (v.*) e la rapamicina (v.*).

Le complicazioni dopo trapianto sono numerose e spesso è difficile distinguere tra effetti tossici dovuti al condizionamento ed effetti dovuti al trapianto «in sé». Gli effetti tossici sommati a GvHD acuta, mancato attecchimento, polmonite interstiziale, sindrome respiratoria acuta e sindrome veno-occlusiva del fegato sono la causa del rapido decremento iniziale nelle curve di sopravvivenza dopo trapianto di m. o. (tab. II).

**Malattia trapianto verso ospite (GvHD; *Graft versus Host Disease*)**

Si intende per GvHD (*Graft versus Host Disease*), la reazione che compare dopo trapianto di m. o., sostenuta dai linfociti T del donatore e diretta contro antigeni HLA e non HLA del ricevente. Essa è ancor oggi una delle principali cause di insuccesso del trapianto di m. o. allogenico, nonostante la prevenzione con terapia immunosoppressiva. Sappiamo ancora poco delle sue cause nonostante siano passati quasi 30 anni da quando Van Bekkum dimostrava, nel modello murino, che la gravità della GvHD acuta era proporzionale al numero dei linfociti «contaminanti» l'inoculo midollare.

Il problema è però più complesso perché, a parità di





Digitized by Google

contaminazione midollare linfocitaria, il 50% dei pazienti non sviluppa GvHD, il 25% sviluppa una GvHD moderata ed il rimanente 25% una GvHD grave.

*GvHD acuta*

La GvHD acuta colpisce tre organi bersaglio: cute, fegato, intestino (tab. III).

Sono state impiegate diverse metodiche nel tentativo di prevenire la malattia, i principali farmaci usati sono gli agenti citotossici e la ciclosporina. Sia il metotrexate (MTX) che la ciclofosfamide (CY) hanno come effetto collaterale la mielotossicità e quindi ritardano l'attecchimento; inoltre il MTX è epatotossico.

La ciclosporina (v.*) è un agente immunosoppressore diverso dagli agenti citotossici e dagli steroidi. Il suo meccanismo d'azione sembra legato all'inibizione di una RNA polimerasi presente in tutte le cellule dell'organismo, ma attiva specie a livello dei linfociti per una loro ricchezza nell'attivatore della polimerasi stessa. È un metabolita naturale di un fungo, ed è ormai largamente impiegata in campo trapiantologico sia sperimentale che clinico. Il vantaggio principale è l'effetto favorente sull'attecchimento: questo suggerisce una inibizione di cellule del ricevente che mediano le reazioni di rigetto.

L'effetto della ciclosporina sulla GvHD è assai meno chiaro. Nella nostra esperienza l'incidenza di GvHD acuta è significatamente più bassa nei pazienti trattati con ciclosporina rispetto a quelli trattati con metotrexate, ma la mortalità è assolutamente paragonabile.

Le difficoltà nell'uso corretto della ciclosporina vengono aumentate dall'impossibilità di definire con precisione il livello sierico «terapeutico». Sorge addirittura il dubbio che non esista una finestra terapeutica, dato che in alcuni pazienti si osserva nefrotossicità in presenza di GvHD.

**TAB. III. ORGANI BERSAGLIO DELLA GvHD**

| Cute | Fegato | Intestino |
|---|---|---|
| eritema: % della superficie corporea | bilirubina | volume diarrea |
| + 25% | 2-3 mg% | 500-1000 ml/*die* |
| ++ 25%-50% | 3-6 mg% | 1000-1500 ml/*die* |
| +++ generalizzato | 6-15 mg% | oltre 1500 ml/*die* |
| ++++ eritema + manifestazioni bollose | oltre 15 mg% | ileo |

Nell'animale la rimozione dei linfociti T dall'inoculo midollare si traduce in un'assenza di GvHD acuta. Nell'uomo vi sono varie tecniche dimostratesi efficaci per rimuovere le cellule T, fra queste l'impiego delle lectine e l'uso di anticorpi monoclonali. Gli aspetti negativi di queste procedure sono sia ritardati attecchimenti e rigetti, che aumentato rischio di ricaduta leucemica.

Non è chiaro il motivo per cui il midollo T depleto venga rigettato, forse vi è una rimozione di cellule T *helper* essenziali per l'immortalità delle cellule staminali, oppure una mancata reazione GvHD dei linfociti del donatore diretta contro i linfociti del ricevente.

La terapia della GvHD acuta si basa sull'uso di immunosoppressori: steroidi, metotrexate e ciclosporina A, globulina antilinfocitaria, anticorpi monoclonali.

*GvHD cronica*

Nella nostra esperienza il 39% dei pazienti vivi a 100 giorni dal trapianto di m. o. va incontro a GvHD cronica: per il 23% si tratta di una forma limitata, per il 16% di una forma estesa.

La GvHD cronica è una malattia multisistemica simile ad alcune malattie autoimmuni ed in particolare alla sclerodermia: la GvHD cronica viene suddivisa in limitata (se solo cutanea) o estesa (se coinvolge anche intestino e/o fegato). Nella nostra esperienza, su 161 pazienti a rischio di GvHG cronica, l'età del donatore è la variabile che maggiormente correla con la presenza di questa forma ($p = 0,002$). Seguono la pregressa GvHD acuta, l'età del ricevente ed il numero di cellule infuse.

La terapia della GvHD cronica ha diversi obbiettivi: *a*) immunosoppressione; *b*) prevenzione delle infezioni batteriche e fungine; c) terapia delle infezioni virali; *d*) dieta appropriata; *e*) sintomatica (pomate cutanee, ginnastica per mobilizzare le articolazioni).

**Indicazioni**

Le indicazioni al trapianto di midollo allogenico sono numerose, in rapporto alle parimenti numerose funzioni sostenute dal m. o. che non si limitano alla sola produzione di globuli rossi, bianchi e piastrine. Forse il modo migliore di dare un'idea dello spettro delle indicazioni del trapianto di midollo allogenico è quello di rapportarsi al tipo di alterata funzione midollare cui si desidera porre riparo (Deeg H. J., 1988).

Il trapianto di m. o. è un utile presidio terapeutico in

**TAB. IV. STATI MORBOSI CURABILI CON IL TRAPIANTO DI MIDOLLO**

| Neoplastici | Non neoplastici (congeniti) | Acquisiti |
|---|---|---|
| Leucemie acute non linfoidi | Immunodeficienze<br>Emoglobinopatie omozigotiche | Anemia aplastica<br>Emoglobinuria parossistica notturna |
| Leucemie acute linfoblastiche | Osteopetrosi | Altri |
| Leucemia mieloide cronica | Mucopolisaccaridosi<br>Mucolipidosi | |
| Leucemie secondarie e mielodisplasie | Altre malattie lisosomali | |
| Mielofibrosi | | |
| Linfomi maligni | | |
| Mieloma multiplo | | |
| Tricoleucemia | | |
| Neuroblastoma | | |



Digitized by Google

diversi stati morbosi: *a*) aplasie midollari, *b*) immunodeficienze, *c*) errori congeniti, *d*) emoblastosi (v. anche tab. IV).

Un primo gruppo è costituito dalle *insufficienze midollari*. Le cellule staminali primitive, da cui dipende tutto l'intricato reticolo dell'ematopoiesi, si ammalano profondamente, il sangue non si produce più, ed i pazienti per vivere dovevano essere continuamente trasfusi, sinché l'avvento di qualche complicazione metteva fine alla loro esistenza. La malattia si chiama *anemia aplastica*; una sua variante congenita è l'*anemia di Fanconi*.

Un secondo gruppo è costituito dalle *immunodeficienze*. In queste, tranne rare eccezioni, l'ematopoiesi è conservata, ma esistono alterazioni gravi delle funzioni immunologiche linfocitarie, per cui i pazienti decedevano ancora bambini di infezioni incontrollabili. Il prototipo di questo raggruppamento è la immunodeficienza combinata grave o SCID (*Severe Combined Immunodeficiency*).

Un terzo gruppo molto complicato è costituito dai cosiddetti *errori congeniti*, in realtà molto affine al precedente. Questi errori congeniti possono essere costituiti da un errore molecolare della sintesi dell'emoglobina, come nella talassemia, comune nell'area mediterranea ed in Italia, e nell'anemia depranocitica, frequente nella razza negra. Essi possono interessare la cosiddetta linea monocitaria-macrofagica, dando origine all'osteopetrosi infantile maligna, in cui lo scheletro non viene rimaneggiato quotidianamente da cellule specializzate note come *osteoclasti* e tutte le aperture ossee si chiudono: solo il trapianto può salvare questi bambini da una morte atroce. Gli errori congeniti possono essere enzimatici, e qui esiste un accumulo svariatissimo di malattie infantili gravissime, come le mucopolisaccaridosi, le lipidosi, etc., tutte malattie nelle quali il trapianto di midollo allogenico può essere liberatore, se praticato prima che siano intervenute alterazioni irreversibili.

L'ultimo gruppo è costituito dalle leucemie e da altre affezioni neoplastiche del sangue/midollo, fra le quali le sindromi mielodisplastiche, il plasmocitoma o mieloma multiplo, ed altre. Ormai questa è diventata l'area che accentra il maggior numero di trapianti, nonostante si tratti, con la sola eccezione delle leucemie acute linfoblastiche, di malattie dell'età matura ed avanzata, mentre la maggior tolleranza nei confronti della cosiddetta tossicità trapiantologica si possiede al di sotto di 20 anni.

**Ricaduta leucemica**

Lo scopo del trapianto di m. o. è quello di guarire i pazienti. Per ottenerlo occorre che il paziente sopravviva al trapianto e che la leucemia non si ripresenti. Vi sono almeno 4 momenti del protocollo trapiantologico nei quali è possibile intervenire per modificare la incidenza di ricaduta leucemica, ricordandoci però che tale modifica non deve aumentare la tossicità, se vogliamo che essa si traduca in un aumento delle guarigioni:

1) *selezione del paziente*; la ricaduta leucemica interviene in una percentuale variabile di casi: 10-30% per i pazienti trapiantati in fase precoce di malattia e 30-80% per quelli in fase avanzata. Selezionare pazienti in fase precoce si traduce sempre in migliori risultati;

2) *condizionamento*; un aumento della chemio/radioterapia dovrebbe aumentare il *cell kill* ovvero la morte di cellule del clone neoplastico. Purtroppo aumentano corrispondentemente anche le morti tossiche: non vi è alcuna dimostrazione nella letteratura che una intensificazione del condizionamento al di sopra della combinazione ciclofosfamide/irradiazione (1000 rad) migliori la sopravvivenza;

3) *composizione midollare*; la ricaduta leucemica in pazienti che ricevono midolli T-repleti (con intatta componente T matura) hanno una probabilità di ricadere sicuramente inferiore a pazienti che ricevono midolli T-depleti (dove la componente T è stata rimossa con metodiche immunologiche o fisiche);

4) *immunosoppressione post-trapianto di m. o.*; è ormai accettato che la intensificazione della profilassi GvHD post-trapianto di m. o. (ciclosporina o metotrexate o combinazione dei due) aumenta il rischio di ricaduta.

Da quanto detto emerge che l'efficacia terapeutica del trapianto di m. o. poggia su delicati e complessi rapporti biologici fra cellule immunocompetenti del donatore e del ricevente, cellule emopoietiche e cellule leucemiche: si tratta forse del primo esempio chiaro di immunoterapia dei tumori nell'uomo.

**Risultati terapeutici**

*Immunodeficienze ed errori congeniti*

È chiaro che non possiamo rivedere i risultati del trapianto di m. o. allogenico in tutto lo spettro delle indicazioni precedentemente illustrate. Per le immunodeficienze e gli errori congeniti i risultati positivi sono così importanti, e il destino dei piccoli pazienti non trapiantati così tragico, che esiste una tendenza sempre più forte e giustificata a ricorrere a donatori consanguinei non-perfettamente compatibili, controllando i rischi immunologici con anticorpi monoclonali particolari inattivanti le molecole «di adesione», che consentono il riconoscimento dell'estraneità (*non-self*) dei linfociti T del donatore (Gale R. P., 1989).

Un altro errore congenito che sta all'origine non più della morte in età giovane, grazie ai progressi della terapia trasfusiva, ma in ogni modo di una vita infelice, è la talassemia omozigotica, conosciuta anche come anemia mediterranea grave o morbo di Cooley. Se il trapianto viene effettuato da un fratello istocompatibile sano la malattia è guarita; se si tratta di un fratello portatore il miglioramento è egualmente prezioso.

Si deve al gruppo di Pesaro, diretto da Guido Lucarelli, l'inizio e lo sviluppo del programma trapianto di m. o. allogenico nella talassemia omozigote. Il gruppo ha trapiantato oltre 400 pazienti di età compresa fra 1 e 26 anni da donatori HLA identici. Sono stati identificati fattori di rischio quali l'epatomegalia, la fibrosi portale e la modalità di chelazione; i pazienti vengono oggi classificati in tre classi: classe I con epatomegalia < 2 cm, non fibrosi portale e chelazione corretta; classe II con uno o due criteri di rischio; classe III con tutti e tre i criteri di rischio presenti. La sopravvivenza libera da malattia è rispettivamente dell'82, 73 e 13% nelle tre classi a dimostrazione della accuratezza degli indici prognostici (Lucarelli *et al.*, 1990). Il trapianto in assenza di un fratello HLA identico è ancora da considerarsi sperimentale.

L'elevatissima percentuale di successi (guarigione nel 90% dei casi) ottenuta anche dal gruppo di Torlontano (Centro di Pescara-Chieti) in 52 trapianti eseguiti in pazienti con *thalassemia major* dal 1987 al 1990, con mortalità del solo 3% in età infantile (cfr. anche Di Bartolomeo *et al.*, 1989), ha indotto quest'ultimo gruppo ad estendere fin dal 1987 l'impiego del trapianto di m. o. anche in soggetti talassemici di età adolescenziale e adulta (età tra i 15 e 25 anni con mediana di 18 anni) (Di Bartolomeo *et al.*, 1991).

Nei 13 pazienti di questa età la guarigione è stata ottenuta in 12 casi con un solo decesso (paziente di 17 anni). Il protocollo impiegato nel trapianto nei soggetti adulti è stato lo stesso proposto dal gruppo di Pescara fin dal 1981. Questo protocollo ha previsto per la prima volta nel trapianto nella *thalassemia major* l'impiego della



Digitized by Google

ciclosporina associata al busulfano in dosi moderate (12-13 mg/kg), alla ciclofosfamide (200 mg/kg), al metotrexate in breve ciclo e all'aciclovir, quest'ultima in funzione antivirale (Torlontano *et al.*, 1985).

*Anemia aplastica*

L'anemia aplastica è una malattia tanto del «seme» che del «terreno», nel senso che si assommano alterazioni intrinseche delle cellule staminali ed alterazioni reattive, con impronta autoimmune, dei T linfociti midollari. Sta di fatto che la prognosi dell'anemia aplastica grave (SAA o *Severe Aplastic Anemia*) è estremamente grave a breve scadenza nonostante le trasfusioni. Questo terribile destino è stato letteralmente capovolto dall'introduzione di due nuove procedure terapeutiche, il trapianto e l'immunosoppressione per mezzo di globulina antilinfocitaria (ALG), cui oggi si aggiunge con vantaggio la ciclosporina. Ben s'intende che i meccanismi d'azione di queste terapie sono profondamente diversi: con il trapianto si somministrano cellule staminali nuove e si costruisce un midollo nuovo, in altre parole si somministra un «seme» nuovo; con l'immunosoppressione si deprimono quei fattori inibenti del «terreno» che ostacolano i già alterati ritmi di produzione delle cellule staminali del paziente.

La scelta della programmazione terapeutica dipende sostanzialmente dall'età del paziente e dalla gravità della malattia (più o meno di 200 neutrofili/mm³).

Nei pazienti sotto i 20 anni di età con aplasia molto severa (meno di 200 neutrofili) il trapianto è la terapia di elezione, in presenza di un donatore familiare HLA-identico. Nei pazienti oltre i 20 anni con aplasia moderatamente severa (oltre 200 neutrofili), la terapia di elezione è la globulina antilinfocitaria (ALG) con o senza ciclosporina.

Nelle altre fasce di pazienti (giovani con aplasia non severa o anziani con aplasia molto severa) i risultati di trapianto e ALG sono sovrapponibili. Nella nostra casistica di Genova su 65 pazienti sono viventi da 3 a 15 anni il 58% (fig. 1): la sopravvivenza è 66, 56, 46% rispettivamente nei pazienti di età compresa fra 1 e 15 anni, 15-30 ed oltre 30 anni.

L'EBMT dispone dei dati di 1529 pazienti: sono viventi il 100% dei pazienti trapiantati con midollo singenico, il 57% dei pazienti trapiantati con midollo HLA identico, il 25% dei pazienti trapiantati con midollo non identico.

La sopravvivenza dopo immunosoppressione è del 62%, ma si deve sottolineare che questi ultimi pazienti non guariscono mai veramente e possono ricadere o sviluppare malattie «clonali» (emoglobinuria parossistica notturna, EPN; leucemie; mielodisplasie).

*Leucemia mieloide cronica*

L'inesplorato continente della leucemia mieloide cronica sta finalmente cedendo i suoi segreti. La dimostrazione che è possibile «risuscitare», coltivare ed utilizzare il residuo minimo di cellule normali, Ph¹-negative, dei pazienti sta forse aprendo la strada a nuove possibilità di autotrapianto, che finora era sempre fallito in questa malattia. Tuttavia, attualmente, la possibilità più concreta di ottenere la guarigione è fondata sul trapianto allogenico (Marmont A. M., 1990).

È per questo motivo che la leucemia mieloide cronica è diventata la leucemia più trapiantata nel mondo (si sono ormai trapiantati non meno di 3000 pazienti), e si sa ormai con certezza che i risultati migliori si ottengono nella fase cronica della malattia e, naturalmente, nei soggetti più giovani. Il limite superiore di età non si può considerare ancora precisato ma, man mano che migliora l'assistenza globale trapiantologica, si trapiantano anche pazienti fra i 45 ed i 50 anni, purché naturalmente dispongano di un donatore fraterno HLA-identico. Si è anche accertato che i risultati sono migliori se si procede al trapianto a poca distanza dalla diagnosi, anziché attendere qualche anno. Pazienti di età giovane trapiantati precocemente possono avere una probabilità di guarigione dell'80%.

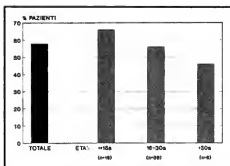



Fig. 1. Percentuali di sopravvivenza di 65 pazienti affetti da grave anemia aplastica, sottoposti a trapianto allogenico di m. o.

La GvHD (o malattia trapianto contro ospite) è una pericolosa, e spesso mortale, complicanza trapiantologica che è particolarmente grave e frequente in questa malattia. Poiché è causata dai linfociti T presenti nell'espianto midollare del donatore si è pensato di eliminarli, per mezzo di vari procedimenti, immunologici e non, definiti globalmente come *T-deplezione*. Ed in effetti la T-deplezione ha ridotto drasticamente la GvHD, ma con la non del tutto inattesa ma profondamente deprimente osservazione che le ricadute post-trapiantologiche si facevano molto più frequenti: si è visto infatti che i linfociti T (ed altre cellule, fra cui le NK) del donatore possiedono una loro attività antileucemica specifica, nota come GvL (*Graft versus Leukemia*), attività annullata dalla T-deplezione. Si è così scoperto che il trapianto di midollo eradica le leucemie per mezzo di due meccanismi distinti, il primo chemioradioterapico, il secondo immunologico. Alla T-deplezione non si può però rinunciare nei pazienti anziani ed in quelli che ricevono il midollo da un donatore non famigliare (MUD), i quali sono tutti ad alto rischio per la GvHD. Si ricorre attualmente a metodiche di T-deplezione cosiddette di terza generazione, tentando di separare sottopopolazioni linfocitarie T più specializzate per la GvL, e di restituirle dopo la deplezione globale. Ma si deve ammettere che il problema non è ancora risolto.

Nella nostra esperienza genovese la sopravvivenza in fase precoce (prima fase cronica) è del 52% e del 22% in fase avanzata (fig. 2). In analisi multivariata sulla sopravvivenza, l'intervallo diagnosi-trapianto, utilizzato come variabile continua, è il primo ed unico fattore prognostico di rischio con una significatività dello 0,001.

L'incidenza globale di ricaduta a Genova è del 30 e 51% rispettivamente in fase precoce ed avanzata di malattia (fig. 2).

Per quanto concerne la T-deplezione la ricaduta in prima fase cronica è del 12 e 77% rispettivamente per i pazienti T-repleti o T-depleti ($p = 0{,}001$) (fig. 2), a conferma dei dati internazionali.

Recidive leucemiche possono essere solo citogenetiche o di tipo sia citogenetico che ematologico.





Digitized by Google

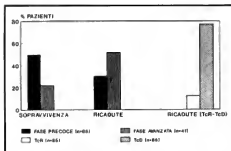



Fig. 2. Percentuali di sopravvivenza di 126 pazienti affetti da leucemia mieloide cronica, sottoposti a trapianto allogenico di m. o. TcR = trapianto con replezione; TcD = trapianto con deplezione.

La persistenza di cellule Ph[1]-positive è un'evenienza frequente ed è stata documentata in 19 su 74 casi analizzati in uno studio collettivo. Talvolta l'alterazione citogenetica scompare gradualmente, probabilmente in rapporto alla proliferazione delle cellule emopoietiche Ph[1]-negative del donatore; altre volte le metafasi Ph[1]-positive rimangono l'unica evidenza della ricaduta, altre volte ancora si osserva la progressione verso una ricaduta completa (ematologica e clinica). In tale evenienza talora l'interruzione della terapia immunosoppressiva ha determinato la scomparsa del clone Ph[1]-positivo.

*Leucemia acuta linfoblastica*

La leucemia acuta linfoblastica è il tumore più frequente dell'età pediatrica forse in relazione con lo sviluppo del sistema immunologico, ma comprende solo il 20% delle leucemie acute dell'adulto. La malattia è eterogenea ma evidenzia soprattutto una netta dicotomia tra età adulta ed età pediatrica.

La terapia convenzionale permette una sopravvivenza libera da malattia a 5 anni dell'80-90% nei bambini a rischio standard, ma solo del 10-25% negli adulti. Per questo motivo la maggior parte dei trapianti pediatrici viene fatta in seconda remissione dove è nettamente superiore rispetto alla chemioterapia, specie quando la prima remissione è durata meno di 18 mesi.

Negli adulti molti centri eseguono il trapianto in prima remissione: in uno studio recente dell'IBMTR la sopravvivenza libera da malattia è del 39% per gli adulti trapiantati in prima remissione e del 26% sia per gli adulti che per i bambini trapiantati in seconda. Nella nostra esperienza la sopravvivenza in prima remissione è del 52% e del 22% in fase avanzata, con probabilità di recidiva del 24% e del 62% (fig. 3). Anche nelle leucemie acute linfoblastiche come nelle leucemie mieloidi croniche la T-deplezione aumenta la probabilità di recidiva: 50% *vs.* 20% (p = 0,01) (fig. 3).

Il trapianto di m. o. allogenico deve, a nostro avviso, essere preso in considerazione in tutti i pazienti con leucemia linfoblastica acuta ad alto rischio, possibilmente in fase precoce di malattia.

*Leucemia mieloide acuta*

Il numero di pazienti con leucemia mieloide acuta trapiantati è molto alto (nel 1989 erano circa 3000) e numerosi sono i fattori che influenzano l'esito del trapianto.

La fase della malattia resta una variabile significativa in tutti gli studi: 51% *vs.* 31% in fase precoce o avanzata nella nostra esperienza (fig. 4). È anche vero che questa differenza non è «colossale», ed ha spinto alcuni a «posticipare» il trapianto allogenico in fase avanzata. La nostra opinione è che una volta intervenuta la ricaduta leucemica non sempre è possibile rimettere il paziente in remissione o avere un posto disponibile per un trapianto: il trapianto va fatto secondo noi in prima remissione cercando di ottimizzare la procedura trapiantologica (nel nostro ultimo protocollo la sopravvivenza delle leucemie mieloidi acute trapiantate in prima remissione è del 91%).

La probabilità di ricadere è del 30% *vs.* il 51% in fase precoce o avanzata (fig. 4), ma è influenzabile dalla dose di irradiazione (0% *vs.* 30% con dose ottimale o subottimale), dalla dose di ciclosporina post-trapianto (0% *vs.* 30% con 1 o 5 mg/kg), dalla presenza o meno dei linfociti T nel midollo (29% *vs.* 48% nella nostra esperienza, fig. 4).

Il trapianto allogenico è oggi da tutti considerato una importante opzione terapeutica per i pazienti affetti da leucemia mieloide acuta: se un donatore HLA identico è presente nella famiglia, il trapianto va programmato presto. In assenza di un donatore si può programmare un autotrapianto in prima remissione (v. sotto).

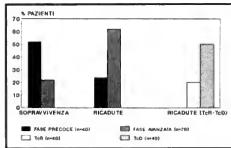



Fig 3. Percentuali di sopravvivenza di 110 pazienti affetti da leucemia linfoblastica acuta, sottoposti a trapianto allogenico del m. o.

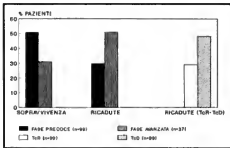



Fig. 4. Percentuali di sopravvivenza di 136 pazienti affetti da leucemia mieloide acuta, sottoposti a trapianto allogenico di m. o.





Digitized by Google

*Conclusioni sulle leucemie acute*

Il numero dei pazienti trapiantati per leucemie acute mieloidi supera ormai i 3000 casi: si tratta naturalmente di una casistica molto eterogenea per subtipo di leucemia, età, fase di malattia, condizionamento, etc. Ma il fattore essenziale che condiziona l'esito dei trapianti, ossia la sopravvivenza libera da malattia o DFS (*Disease-Free Survival*), è lo stato remissionale. Il trapianto effettuato nelle fasi avanzate è penalizzato tanto dalla mortalità trapiantologica che dalla maggiore incidenza di ricadute. A 5 anni di distanza dal trapianto si può dire in linea generale che la DFS è del 50% circa per i pazienti trapiantati in prima remissione, del 25-30% per quelli in seconda, e del 15% per quelli in ricaduta.

I progressi effettuati tanto dalla chemioterapia da sola che dall'autotrapianto hanno reso peraltro molto più complessa la strategia terapeutica. Esiste una tendenza a non trapiantare i pazienti in prima remissione chemioterapica, ed a trapiantare solo quelli che ricadono, dopo averli messi in seconda remissione. Quando e come inserire il trapianto autologo? La risposta a tali quesiti può venire solo da studi clinici in corso controllati, come quello europeo, che ha sinora raccolto 700 pazienti. Si può però già dire che il procedimento seguito dal minor numero di ricadute leucemiche è il trapianto allogenico, per cui una riduzione della sua tossicità è suscettibile di dare la migliore risposta al problema.

Il problema decisionale è ancora più complesso nelle leucemie linfoblastiche acute, di cui, com'è noto, oltre il 70% delle forme infantili guarisce con la sola chemioterapia. Il trapianto allogenico resta peraltro la soluzione più idonea per i pazienti ricaduti. Nell'adulto il problema è reso più complesso dai progressi della chemioterapia. Si sta anche verificando la tendenza a trapiantare in seconda remissione, ossia quei pazienti che sono ricaduti dopo la chemioterapia.

**Trapianto di midollo autologo (autotrapianto)**

La razionale dell'autotrapianto consiste nel prelievo e nella *criopreservazione*, mediante un congelamento programmato che non danneggia la vitalità cellulare del midollo del paziente, nel trattamento chemioradioterapico massimale (eguale a quello del trapianto allogenico) del paziente e nella reinfusione del midollo scongelato che salva lo stesso dalla mieloablazione terapeutica. Tutto ciò è molto lineare per i linfomi maligni e rari altri tumori solidi, fra cui il neuroblastoma infantile, nei quali il midollo non è infiltrato dalla malattia. Riesce invece a prima vista meno comprensibile nel caso delle leucemie acute, nelle quali la sede elettiva del processo morboso sta proprio nel midollo. Si devono però fare due considerazioni: la prima, che il midollo viene prelevato e criopreservato in remissione completa, ossia quando si è, almeno microscopicamente, normalizzato; la seconda, che proprio per eliminare le ultime cellule leucemiche «invisibili» sospette di essere presenti nell'espianto si procede al cosiddetto *purging*, ossia al trattamento dello stesso con farmaci, come la mafosfamide, attivi contro le cellule leucemiche ma non distruttivi di quelle normali (Gorin N. C., 1987).

Il trapianto di midollo autologo si è dimostrato un procedimento terapeutico efficace nei linfomi maligni non eradicati dalla chemioterapia, nonché nel neuroblastoma infantile. Quello che è felicemente sorprendente è la sua efficacia anche nelle leucemie acute, con risultati talora sovrapponibili a quelli dell'allogenico. L'autologo difetta del noto effetto GvL, ma in compenso è meno tossico perché non induce GvHD. Le ricadute leucemiche possono essere più frequenti, ma la tossicità terapeutica è inferiore. Se ne deduce che è certamente più indicato per i pazienti più anziani, nonché, evidentemente, per quelli che non hanno donatori fraterni compatibili.

**Conclusioni e prospettive**

Il trapianto di m. o. è una procedura medica iniziata 20 anni fa. Nel primo decennio si è assistito ad un importante progresso di conoscenze ed a miglioramenti di risultati dovuti soprattutto ad una migliore selezione dei pazienti. Nel secondo decennio il progresso c'è stato, ma meno evidente. La riduzione dell'incidenza della GvHD con T-deplezione non ha migliorato la sopravvivenza. Stesso dicasi per le modifiche dei protocolli di condizionamento.

Il trapianto non è una terapia che eradica la leucemia in ogni caso ed in ogni modo: esso va collocato nell'ambito di una strategia opportuna (ad es. protocolli non tossici), ed utilizzata con la consapevolezza delle molteplici variabili importanti per l'esito finale.

La riduzione della tossicità trapiantologica e la migliore profilassi/terapia delle infezioni batteriche/fungine/virali, l'impiego dei fattori emopoietici e di linfochine stimolanti l'immunità antineoplastica, come la IL-2, la selezione di popolazioni linfocitarie a prevalente attività antileucemica fanno parte del presente, ma andranno puntualizzate nel prossimo futuro.

Per quanto riguarda gli errori congeniti, ci sono molte speranze di sostituire il trapianto di m. o. col trapianto di gene. La biotecnologia necessaria per realizzare tale possibilità è a nostra disposizione, specie oggi che è possibile isolare con buona efficienza le cellule staminali emopoietiche.

Da ultimo nel trapianto autologo è possibile che l'utilizzo delle cellule staminali del sangue periferico, opportunamente stimolate e concentrate, possa sostituire il prelievo midollare propriamente detto, con minor pericolo di commistione da parte di cellule tumorali.

**Bibliografia**

Boggs D. R., Boggs S. S. *et al.*, *J. Clin. Invest.*, 1982, **70**, 244-253.
Bortin M. M., Horowitz M. M., Weiner R. S. *et al.*, *JAMA*, 1991 (in corso di stampa).
Burakoff S., Deeg H. J., Ferrara J., Atkinson K., *Graft-vs-Host Disease*, 1990, Dekker, New York.
Champlin R. ed., *Bone Marrow Transplantation*, 1990, Kluwer, Boston.
Deeg H. J., Klingemann H. G., Philips G. L., *A Guide to Bone Marrow Transplantation*, 1988, Springer, Berlin.
Di Bartolomeo P. *et al.*, in Buckener C. D., Gale R. P., Lucarelli G. eds., *Advances and Controversies in Thalassemia Therapy: Bone Marrow Transplantation and Other Approaches*, 1989, Alan Liss, New York, pp. 193-199.
Di Bartolomeo P. *et al.*, *Bone Marrow Transplantation*, 1991, **7** (Suppl. 2), 73.
Emerson S. G., Gale R. P. *et al.*, *Hematopoiesis*, 1988, **8**.
Francia di Celle P., Foà R., *Haematologica*, 1991, **76** (Suppl. 3), 303.
Frassoni F., Barretta J. *et al.*, *Brit. J. Haematol.*, 1988, **70**, 371.
Gale R. P., Champlin R. eds., *Bone Marrow Transplantation. Current Controversies*, 1991, Alan Liss, New York.
Gorin N. C., Duhamel G., *L'autogreffe de moelle*, 1987, Masson, Paris.
Harrison D. E., Astle C. M. *et al.*, *J. Exp. Med.*, 1982, **156**, 1767.
Lowemberg B., Verdok L. J. *et al.*, *J. Clin. Oncol.*, 1990, **8**, 1589.
Lucarelli G., Galimberti M., Polchi P. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1990, **322**, 417-421.
Lucarelli G., Galimberti M. *et al.*, *Haematologica*, 1991, **76** (Suppl. 3), 51.
Lucarelli G. *et al.*, *Exp. Hematol*, 1984, **12** (Suppl. 15), 95.
Lucarelli G. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1987, **316**, 1050.
Marmont A. M., *Il Trapianto di Midollo in Oncoematologia*, in *Progressi nella ricerca sul Cancro*, 1989, Le Scienze, Milano, pp. 71-81.



Digitized by Google

Marmont A. M., *Bone Marrow Transplantation*, in Freireich E. J. ed., *New Approaches to the Treatment of Leukemia*, 1990, Springer, Berlin.
Marmont A. M., McCulloch E. A. *et al.*, *New approaches to the treatment of leukemia*, 1990, Europ. School of Oncology.
O'Reilly R. J., Keever *et al.*, *Immunodef. Rev.*, 1989, **1**, 273.
Santos G. W. *et al.*, *Ann. Rev. Med.*, 1989, **40**, 99.
Simmons P. J., Przepiorka D. *et al.*, *Nature*, 1987, **328**, 492.
Torlontano G. *et al.*, *Haematologica*, 1985, **70**, 270.
Turhan A. G., Humphries R. K. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1989, **320**, 1655.
Witherspoon R. P., Fsher L. D. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1989, **321**, 784-789.

ALBERTO M. MARMONT E ANDREA BACIGALUPO

## MIDOLLO SPINALE [v. vol. IX, col. 1371]

### Semeiotica radiologica e strumentale

L'indagine radiografica *diretta* del rachide, associata eventualmente a una stratigrafia, è di notevole utilità come procedimento di base, preliminare a qualunque altra indagine successiva. È facilmente ottenibile in ogni Servizio di Radiologia, senza particolari problemi per il paziente.

La *scintigrafia ossea* può costituire una tappa diagnostica intermedia, nel caso in cui l'indagine radiografica diretta non sia stata sufficientemente indicativa di una lesione distrettuale osteostrutturale, o come procedimento di identificazione di eventuali lesioni ossee sistemiche (ricerca di metastasi ossee clinicamente occulte) (v. osso, XI, 37).

La *tomografia computerizzata* (TC) a livello spinale consente di dimostrare con chiarezza lo stato del rachide e dei tessuti circostanti in condizioni normali e patologiche; praticamente impossibile è la visualizzazione del contenuto del canale rachideo senza la somministrazione di un mezzo di contrasto idrosolubile non ionico per via subaracnoidea spinale (*mielo-TC*; v. MIELOGRAFIA*). La TC a livello spinale ha come limite principale il fatto di essere limitata allo studio secondo sezioni assiali e pertanto non può essere estesa a molti metameri. L'identificazione del livello da indagare si basa prevalentemente sui risultati dell'indagine radiografica diretta del rachide o della scintigrafia ossea (v. anche TOMOGRAFIA ASSIALE COMPUTERIZZATA, XIV, 2536).

Di notevole interesse diagnostico è attualmente la *risonanza magnetica nucleare* (RMN). I suoi vantaggi principali risiedono nella possibilità di dimostrare direttamente senza somministrazione di mezzo di contrasto le strutture interne al canale rachideo, quali il midollo e le sue guaine, lo spazio subaracnoideo spinale, ma anche le strutture ossee ed epidurali; altro elemento di notevole importanza è rappresentato dalla possibilità di avere in RMN sezioni sagittali dirette della colonna o sezioni dirette in altre direzioni (sezioni coronali ed assiali): la multiplanarità dell'indagine e la sua multiparametricità la rendono fondamentale per lo studio della colonna vertebrale e del midollo spinale in qualunque situazione patologica (v. anche TOMOGRAFIA A RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE, XIV, 2438).

La visualizzazione radiografica del m. s. e dello spazio subaracnoideo spinale, eseguita mediante somministrazione di mezzo di contrasto in quest'ultimo, costituisce la *mielografia*. Si tratta di una indagine di grande importanza diagnostica per la patologia midollare da eseguirsi comunque in un tempo successivo a quelle precedentemente indicate. Per la descrizione di tecniche, indicazioni e limiti si rinvia alle voci MIELOGRAFIA; MIELOGRAFIA*.

Di notevole interesse diagnostico è l'*angiografia midollare*. Viene effettuata mediante cateterismo selettivo, per via femorale, delle arterie che possono dare origine a rami midollari (arterie succlavie o vertebrali, tronchi tireocervicoscapolari, arterie intercostali e lombari). Questo esame, particolarmente indaginoso, è attualmente limitato allo studio di particolari patologie, identificabili comunque con altre indagini, prevalentemente mediante RMN.

La *flebografia rachidea* è una tecnica attualmente ritenuta superata: viene eseguita per cateterismo delle vene paravertebrali o per somministrazione transossea del mezzo di contrasto a livello della spongiosa dei corpi vertebrali o delle apofisi spinose o trasverse. È possibile con tale metodica visualizzare le vene epidurali e pertanto dimostrare indirettamente patologie a carattere espansivo che determinino blocchi venosi distrettuali, o varici.

Un certo interesse diagnostico può avere la *ecografia*, per lo studio del m. s. e delle sue guaine. Limite alla utilizzazione di tale metodica è l'esistenza delle pareti ossee del canale rachideo, per cui è indicata in particolare per lo studio postoperatorio.

#### Bibliografia

Bradac G. B., *Elementi di Neuroradiologia*, 1990, Minerva Medica, Torino.
Lenzi M., Salvolini U. eds., *Neuroradiologia*, 1978, Minerva Medica, Torino.
Salvolini U., *Tecnologia non invasiva nelle diagnosi neurologiche: CT e MRI*, in Agnoli A. ed., *Neurologia*, 1989, UTET, Torino.

RED.

## MIELOGRAFIA [v. vol. IX, col. 1471]

L'impiego della mielografia è stato fortemente condizionato dai progressi della ricerca farmacologica nel campo dei mezzi di contrasto e, negli ultimi tempi, dall'evoluzione di nuove metodologie di studio alternative quali la risonanza magnetica nucleare (RMN).

Trattandosi di una metodica «invasiva», è opportuno giungere alla indagine mielografica solo dopo aver sfruttato ogni risorsa clinica, e dopo accertamenti non invasivi alternativi o preliminari quali un'indagine radiografica diretta della colonna vertebrale, eventualmente una tomografia computerizzata (TC) e uno studio scintigrafico osseo. Al momento attuale, inoltre, la m. viene utilizzata solo in una fase successiva alla indagine mediante RMN, quando questa indagine non abbia dato risultati definitivi, ovvero nel caso in cui non sia praticabile per controindicazioni o per mancata disponibilità dell'apparecchiatura.

Per quanto concerne i mezzi di contrasto, il progresso più importante è stato realizzato dalla sintesi di un prodotto idrosolubile non ionico, denominato *metrizamide* (Amipaque®), realizzato da Almen nel 1969 e successivamente dalla sintesi di un mezzo di contrasto, sempre idrosolubile non ionico, denominato *iopamidolo* (Iopamiro®); a differenza del primo questo è disponibile già in soluzione acquosa stabile. La scoperta dei mezzi di contrasto non ionici ha permesso di ottenere, insieme ad una cospicua riduzione della tossicità generale, un notevole miglioramento della tollerabilità tessutale e locale, anche da parte delle strutture più delicate quali il sistema nervoso (v. CONTRASTO, MEZZI DI*).

Le quantità di mezzo di contrasto opaco solubile non ionico utilizzate per m. opaca segmentaria o m. oscillano da 5 a 15-20 ml. È opportuno sottolineare come l'introduzione di mezzo di contrasto opaco idrosolubile non ionico nello spazio subaracnoideo spinale non sia comunque del tutto esente da effetti collaterali, quali alterazioni dell'umore, cefalea o altri disturbi neurologici ad insorgenza tardiva (attorno alle 24-48 h dalla indagine) e riferibili alla fase di riassorbimento del mezzo di contrasto con penetrazione di questo nel tessuto cerebrale; il monitoraggio elettroencefalografico dimostra in questa fase un'altera-



Digitized by Google

zione del ritmo, riferibile a probabile edema cerebrale diffuso.

Le indicazioni alla m. derivano dalla necessità di accertare una patologia a livello midollare o spinale che determini un'alterazione dello spazio subaracnoideo spinale. Il distretto da esaminare viene selezionato in base agli elementi clinici o ai risultati delle indagini preliminari. Qualora non sia possibile effettuare una RMN per indisponibilità di apparecchiatura o per controindicazione, la raccolta degli elementi clinici e derivanti dall'indagine radiografica diretta o dalla scintigrafia è comunque essenziale per focalizzare correttamente l'indagine.

Nel campo della diagnosi dei processi espansivi, la m. può essere utile dimostrando la sede, i rapporti con le guaine meningee ed il midollo, l'estensione e, per quanto possibile, gli elementi di una diagnosi di probabile natura in vista della possibilità di un trattamento chirurgico e per una corretta programmazione dell'intervento chirurgico stesso.

Altre indicazioni fondamentali sono la patologia discale, sia cervicale che lombare, in particolare le ernie discali: anche in questo caso l'indagine mielografica interviene solo in fase successiva sia alle indagini radiografiche dirette che alla RMN o alla TC, a complemento di queste. Attualmente non è proponibile effettuare un'indagine mielografica per indagare l'esistenza di una patologia discale senza che siano state effettuate precedentemente una o più delle indagini sopra ricordate, in particolare TC e RMN (v. ERNIA DEL DISCO*).

Anche nella valutazione dell'esito di traumi spinali recenti o pregressi, l'indagine mielografica viene attuata solo nella impossibilità di eseguire una RMN e comunque dopo una TC, per poter dimostrare la situazione midollare e dello spazio subaracnoideo spinale in relazione al focolaio di frattura.

L'avvento della TC e la sua diffusione hanno portato a una rivoluzione metodologica in campo neuroradiologico, e anche alla sua sistematica applicazione in campo mielografico. Infatti, per una migliore valutazione della situazione a livello lesionale è opportuno associare la TC in fase successiva alla m. così da ottenere una visualizzazione della topografia lesionale e dei rapporti.

Questa associazione ha prodotto risultati di particolare valore nella dimostrazione di cavitazioni intramidollari, dei rapporti dei processi espansivi con il midollo e con le pareti dello spazio liquorale spinale e per la migliore definizione della patologia epidurale. In questa ultima evenienza, infatti, la TC, oltre a dimostrare con chiarezza le alterazioni dello spazio subaracnoideo spinale, mostra quelle delle strutture epidurali e con ciò una rappresentazione completa della lesione.

Per quanto concerne le indagini complementari alla m. si rinvia alle voci: COLONNA VERTEBRALE* (1797); ERNIA DEL DISCO* (2891); MIDOLLO SPINALE*; SCINTIGRAFIA (XIII, 2214); TOMOGRAFIA ASSIALE COMPUTERIZZATA (XIV, 2536); TOMOGRAFIA A RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE (XIV, 2438).

**Bibliografia**

Bradac G. B., *Elementi di Neuroradiologia*, 1990, Minerva Medica, Torino.
Cabanis E. A. *et al.*, *Atlas d'IRM de l'encephale et de la moelle*, 1987, Masson, Paris.
Lenzi M., Salvolini U., *Neuroradiologia*, 1978, Minerva Medica, Torino.

RED.

**MIELOMA MULTIPLO**: v. PLASMOCITOMA (XI, 2310); PLASMOCITOMA*.

**MIELOPROLIFERATIVE SINDROMI** [v. vol. IX, col. 1503]

**Classificazione**

Il termine *sindromi mieloproliferative* è stato coniato da W. Dameshek per comprendere un gruppo di malattie caratterizzate da alterazioni della mielopoiesi (tab. I). In tali sindromi il carattere proliferativo, non reattivo, non è quasi mai limitato ad una sola serie midollare, mentre non sono eccezionali quadri clinico-ematologici intermedi fra le singole forme morbose o di trasformazione da una forma ad un'altra.

Il termine di sindrome o disordine mieloproliferativo non indica ovviamente una diagnosi, ma solo un preciso orientamento, a cui devono seguire i necessari accertamenti per identificare le singole malattie, suscettibili di specifiche terapie.

In particolare sono strette le correlazioni esistenti tra policitemia vera, trombocitemia e mielofibrosi: infatti le prime due entità nosologiche possono evolvere in mielofibrosi, essendo invece eccezionale il fenomeno contrario. La leucemia mieloide cronica costituisce invece una malattia a sé stante, anche se in alcuni casi può essere evidente una fibrosi midollare.

Infine tutte le s. m. (oggi comprendenti anche forme non inizialmente considerate come disordini mieloproliferativi) possono evolvere in leucemia acuta. Tale evoluzione costituisce la regola in corso di leucemia mieloide cronica, interessando oltre l'80% dei pazienti, mentre è notevolmente meno frequente nelle altre forme morbose. Questo dato sottolinea ulteriormente che queste sindromi, collegate da un punto di vista etiopatogenetico e fisiopatologico, costituiscono singole malattie, con differenti prognosi e terapie.

**Terapia delle sindromi mielodisplastiche**

Il termine di *sindromi mielodisplastiche* è stato coniato dal French American British Group per comprendere un insieme eterogeneo di malattie a carattere mieloproliferativo, precedentemente definite come preleucemie, leucemia oligoblastica o leucemia acuta a lenta progressione. Nell'ambito della moderna classificazione delle s. m., le sindromi mielodisplastiche comprendono le anemie refrattarie con sideroblasti ad anello, le anemie refrattarie con eccesso di blasti, le anemie refrattarie con eccesso di blasti in trasformazione, la leucemia mielomonocitica cronica.

Nell'eterogeneità delle manifestazioni cliniche le sindromi mielodisplastiche presentano una comune tendenza, anche se di grado variabile, ad evolvere in leucemia mieloide acuta.

TAB. I. CLASSIFICAZIONE DELLE SINDROMI MIELOPROLIFERATIVE

1. Policitemia vera
2. Mielofibrosi idiopatica
3. Trombocitemia emorragica
4. Leucemia mieloide cronica
5. Eritroleucemia mieloide cronica
6. Leucemie oligocellulari
7. Leucemie secondarie
8. Leucemia acuta non linfoide
9. Sindromi mielodisplastiche (preleucemie)
   - anemie refrattarie (AR)
   - anemie refrattarie con sideroblasti ad anello (ASIA)
   - anemie refrattarie con eccesso di blasti (AREB)
   - anemie refrattarie con eccesso di blasti in trasformazione (AREB-t)
   - leucemia mielomonocitica cronica



Digitized by Google

La *terapia* prevede l'impiego di diversi approcci in relazione proprio alla eterogeneità delle forme morbose e al fatto che non esiste un'unica forma di terapia efficace.

I corticosteroidi, impiegati per molti anni come primo ed unico presidio terapeutico, sono in realtà controindicati per la possibilità che essi posseggono di incrementare la suscettibilità alla infezioni, già presente in questi pazienti.

I preparati a base di androgeni e di danazolo sono risultati in studi clinici controllati del tutto incapaci di modificare l'evoluzione naturale delle sindromi mielodisplastiche.

Diversi chemioterapici antineoplastici sono stati impiegati, da soli o in associazione. I farmaci citotossici impiegati in monoterapia sono risultati inefficaci. Invece i diversi protocolli di chemioterapia sono risultati variamente attivi anche in relazione a vari fattori, come l'età dei pazienti, l'aggressività delle terapie instaurate. Di recente, in alcuni casi è stato dimostrato il fenomeno della chemioresistenza correlata alla presenza della glicoproteina P.

Il solo mezzo terapeutico definitivamente efficace è il trapianto allogenico di midollo osseo. Esso è capace di provocare la guarigione definitiva, senza alcuna necessità di terapie di mantenimento. Ciò è stato dimostrato dopo trapianti di midollo da donatori HLA-identici, HLA-correlati o HLA-non correlati. Purtroppo la grande maggioranza dei pazienti affetti da sindromi mielodisplastiche è di età troppo avanzata per essere sottoposta a trapianto di midollo osseo.

Infine esiste la possibilità di trattare questi pazienti con agenti differenzianti, cioè capaci di far proseguire quel processo di differenziamento cellulare che, in varia misura e a vario livello, è alterato nelle sindromi mielodisplastiche. La citosina-arabinoside, a basse dosi, è stata la prima ad essere utilizzata a tale scopo, ma oggi si può affermare che soltanto il 16% dei pazienti con sindromi mielodisplastiche ottiene la remissione completa con l'impiego di tale farmaco.

Anche i retinoidi sono stati impiegati come agenti differenzianti: dopo i primi risultati, relativi alla possibilità di ottenere nel 20% dei casi una remissione completa, i dati degli studi clinici successivi non hanno confermato queste percentuali. Ancora scarsa infine è l'esperienza con altri possibili agenti differenzianti come la vitamina D, gli interferoni alfa e gamma, la 5-azacitidina.

Un gruppo particolare di agenti differenzianti è rappresentato dai fattori di crescita dell'emopoiesi, come il fattore stimolante la formazione di colonie di granulociti e di macrofagi (GM-CSF), l'eritropoietina, l'interleuchina 1, l'interleuchina 3. *In vitro*, le cellule provenienti dai pazienti con varie sindromi mielodisplastiche possono essere indotte in varia misura alla differenziazione in seguito all'aggiunta di tali fattori di crescita. Attualmente la sperimentazione clinica di questi agenti nelle sindromi mielodisplastiche è in una fase iniziale. Appare fin da adesso evidente che si ottiene spesso un incremento dei granulociti e delle piastrine, incremento che comunque dipende dal mantenimento del trattamento.

È stato anche sollevato il problema relativo alla possibilità che tali fattori di crescita favoriscano l'evoluzione in leucemia acuta. Sono tutti quesiti cui dovranno rispondere gli studi clinici controllati attualmente in corso, che dovranno anche definire le condizioni ottimali di dosaggio, di preparazione e le vie di somministrazione dei singoli agenti, o di eventuali loro associazioni.

Non bisogna infine dimenticare che tali trattamenti non sono privi di effetti collaterali, come febbre, nausea, vomito, anoressia, dolori ossei, broncospasmo, coliche addominali, aggravamento di preesistenti cardiopatie.

In conclusione, allo stato attuale i pazienti con sindromi mielodisplastiche, una volta posta la diagnosi, debbono essere seguiti per constatare se si tratta di forme abbastanza stabili o di forme progressive. Nel primo caso è sufficiente eseguire una terapia di supporto e di controllo dei sintomi clinici.

Nel secondo caso, se il paziente è giovane e in buone condizioni generali, deve essere attuato il trapianto di midollo osseo allogenico. In caso contrario, in base all'aggressività della singola forma morbosa, è necessario iniziare un trattamento polichemioterapico in associazione o meno alla somministrazione di fattori di crescita. Sarebbe auspicabile che ogni forma di trattamento venisse eseguita nell'ambito di studi clinici controllati, i soli che potranno fornire indicazioni definitive sul trattamento delle sindromi mielodisplastiche.

**Bibliografia**


Appelbaum F. R., Barrall J., Storb R. *et al*., *Ann. Intern. Med.*, 1990, **112**, 590.
Cheson B. D., *Ann. Intern. Med.*, 1990, **112**, 932.
Cines D. B., Cassileth P. A., Kiss J. E., *Ann. Intern. Med.*, 1985, **103**, 58.
Coiffier B., Adeleine P., Gentilhomme O. *et al.*, *Cancer*, 1987, **60**, 3029.
Elias L., Hoffman R., Boswell S. *et al.*, *Leukemia*, 1987, **1**, 105.
Fenaux P., Lai J. L., Jouet J. P. *et al.*, *Blut*, 1988, **57**, 297.
Ganser A., Volkers B., Greher J. *et al.*, *Blood*, 1989, **73**, 31.
Gavosto F., Aglietta M., Piacibello W., *Malattie mieloproliferative*, 1987, UTET, Torino.
Holmes J., Jacobs A., Carter G. *et al.*, *Br. J. Haematol.*, 1989, **72**, 40.
Nayean Y., Pecking A., *Cancer*, 1979, **44**, 1976.
Preisler H. D., Raza A., Barcos M. *et al.*, *Am. J. Haematol.*, 1986, **23**, 131.
Spitzer T. R., Lazarus H. M., Crum E. D., Weisman R., *Med. Pediatr. Oncol.*, 1988, **16**, 17.


LAURA CONTI

## MIFEPRISTONE

F. *mifepristone*. - I. *mifepristone*. - T. *Mifepriston*. - S. *mifepriston*.

SOMMARIO



### Introduzione

Il mifepristone (RU 486, Mifégyne®), sintetizzato nel 1980 da Teutsch *et al.*, è il primo antagonista del progesterone disponibile per uso clinico. Il m., legandosi con elevata affinità ai recettori del progesterone e dei glicocorticoidi, impedisce, per competizione, il legame dell'ormone e inibisce quindi in modo reversibile l'azione di quest'ultimo.

La formula di struttura del m. (fig. 1) è simile a quella del noretindrone, ma il m. possiede un radicale dimetilaminofenile sostituito in 11β, responsabile dell'attività antiormonale.

### Profilo farmacologico

*Attività antiprogestinica*

L'affinità del m. sui recettori del progesterone dell'utero di coniglio è cinque volte superiore a quella del progesterone (Moguilewsky e Philibert, 1985). Nell'animale il m. inibisce le risposte biologiche al progesterone esogeno, consistenti nella preparazione dell'endometrio all'impianto, nel processo di decidualizzazione e nel mantenimento dell'impianto. Antagonizzando gli effetti del progesterone endogeno il m. esercita quindi un'attività abortiva (Philibert e Moguilewsky, 1985).





Digitized by Google

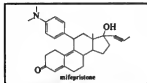



Fig. 1. Formula di struttura del m.

Nella donna, la somministrazione di m. durante la fase luteinica del ciclo mestruale provoca metrorragie secondarie al blocco dell'effetto del progesterone (Schaison *et al.*, 1985). Il fatto che tali metrorragie hanno luogo anche in presenza di alte concentrazioni di progesterone indotte da somministrazione parenterale di HCG, indica un effetto diretto del m. sull'endometrio (Croxatto *et al.*, 1989). Il m., assunto in fase follicolare, non provoca sanguinamento dell'utero, dimostrando che la sua attività antagonista richiede la presenza del progesterone (Liu e Garzo, 1987). Oltre all'azione diretta sull'utero, il m., somministrato in dose uguale o superiore a 5 mg/kg in fase luteinica tardiva, può indurre una luteolisi, che è a sua volta responsabile di una diminuzione del tasso di progesterone. Il meccanismo di questa azione è probabilmente centrale, secondario ad un effetto antigonadotropo del m. (Yen *et al.*, 1987).

Il m., somministrato in fase follicolare avanzata, provoca una inibizione dello sviluppo del follicolo principale con diminuzione della produzione di estradiolo. La fase follicolare è, quindi, prolungata del tempo necessario alla formazione e allo sviluppo di un nuovo follicolo (Liu e Garzo, 1987; Shoupe e Mishell, 1987). Ugualmente, l'assunzione quotidiana di m., alla dose di 25 mg/*die* dal primo al quattordicesimo giorno del ciclo mestruale, inibisce la follicologenesi (Kekkonen *et al.*, 1990; Lukkainen *et al.*, 1988).

*Attività antiglicocorticoide*

L'affinità del m. per i recettori glicocorticoidei del ratto è tre volte superiore a quella del desametasone (Moguilewsky e Philibert, 1985). Il m. esercita un'attività antiglicocorticoide periferica e centrale; quest'ultima è stata dimostrata dall'aumento di ACTH e di cortisolo (Bertagna *et al.*, 1984). Tali effetti si evidenziano a partire da una dose da 4 a 6 mg/kg. La somministrazione cronica di m. in pazienti con cancro del seno e funzione surrenalica normale non ha provocato segni di insufficienza surrenale (Romieu *et al.*, 1987). Questo si spiega, probabilmente, con l'azione centrale del m. che induce ipersecrezione compensatoria di ACTH e di cortisolo.

*Altre attività*

Il m. ha modesta affinità per i recettori degli androgeni e debole attività antiandrogena. Non si fissa sui recettori degli estrogeni e dei mineralcorticoidi (Moguilewsky e Philibert, 1985).

**Farmacocinetica**

Il m., rapidamente assorbito per via orale, si lega con elevata affinità all'orosomucoide (alfa-1 glicoproteina acida) plasmatico. L'emivita del m. è di 18 ore, in seguito ad una unica somministrazione orale di 600 mg. È metabolizzato dal fegato per demetilazione e per idrossilazione; è eliminato prevalentemente per via fecale. Il m. attraversa la placenta; le concentrazioni raggiunte nel feto sono, in media, un terzo delle concentrazioni materne (Frydman *et al.*, 1985).

**Impiego nell'interruzione volontaria di gravidanza**

*Efficacia*

Gli studi clinici sul m. nell'interruzione volontaria di gravidanza [IVG] hanno avuto inizio nel 1982 e sono stati svolti congiuntamente dalla industria produttrice, la Roussel Uclaf, e da due organismi internazionali (OMS e Population Council). I primi esperimenti fatti con il m. da solo hanno permesso di individuare la posologia ottimale: 600 mg in unica somministrazione. L'efficacia (interruzione della gravidanza ed espulsione completa del prodotto del concepimento senza la necessità di un atto chirurgico integrativo) è risultata dell'80% per gravidanze inferiori a 42 giorni di amenorrea (Dubois *et al.*, 1989). Trascorso tale periodo, le probabilità di successo diminuiscono rapidamente.

Al fine di aumentare l'efficacia di tale metodo, è stata somministrata, da 36 a 48 ore dopo l'assunzione del m., una bassa dose, non abortiva, di un analogo delle prostaglandine: gemeprost (Cervagem®; analogo della $PGE_1$), sulprostone (Nalador®; analogo della $PGE_2$) o meteneprost (analogo della $PGE_1$). I risultati positivi hanno, così, raggiunto o superato il 95% nelle gravidanze con meno di 50 giorni di amenorrea (Dubois *et al.*, 1989; Silvestre *et al.*, 1990). Circa l'80% delle donne hanno abortito durante le 24 ore successive alla somministrazione di prostaglandine. L'analisi della velocità di espulsione in rapporto al tipo e alla dose di prostaglandina utilizzata (gemeprost 1 mg per via vaginale; sulprostone 0,250-0,375 o 0,500 mg per via intramuscolare) ha messo in evidenza che l'espulsione è più rapida nelle donne che hanno assunto la dose più elevata di prostaglandine (0,500 mg di sulprostone) (Silvestre *et al.*, 1990). Ciò non ha tuttavia influenzato il tasso complessivo di successo e inoltre questo gruppo di pazienti ha presentato dolori addominali più intensi e metrorragie più prolungate.

Indagini più recenti indicano che le prostaglandine preferibili restano il sulprostone (Nalador®) alla dose di 0,125 mg e il gemeprost (Cervagem®) sotto forma di ovuli da 1 mg.

La presenza di sanguinamento uterino non può costituire un criterio di efficacia del metodo poiché si verifica nella quasi totalità delle pazienti. Tali sanguinamenti avvengono in quantità superiori alle mestruazioni e, nell'85% delle pazienti, hanno una durata di tempo fino a 12 giorni. È necessario un intervento emostatico endouterino nello 0,8% dei casi e una trasfusione nello 0,1%.

La grande maggioranza delle pazienti accusa contrazioni uterine dolorose nelle tre/quattro ore successive alla somministrazione di prostaglandine e nel 20-50% di esse è necessario prescrivere un analgesico, di solito minore. Durante tale periodo si verificano problemi digestivi quali nausea, con maggiore frequenza, e, a volte, vomito o diarrea.

Altri effetti indesiderati sono costituiti da malesseri, astenia, cefalea (con incidenza inferiore al 2%) ed endometrite (0,2%).

*Modalità di prescrizione*

In Francia, il protocollo per attuare le IVG con questo metodo farmacologico è articolato in tre sedute presso il consultorio.

La prima seduta (giorno 1) si deve svolgere entro il quarantanovesimo giorno di amenorrea. La paziente, dopo aver letto un formulario di informazioni che illustra dettagliatamente i limiti e gli effetti collaterali del metodo e firmato una lettera di consenso, assume tre compresse da 200 mg di m.





Digitized by Google

Durante la seconda seduta, 36-48 ore più tardi (giorno 3), si somministra l'analogo delle prostaglandine; la paziente è ricoverata per quattro ore e tenuta sotto osservazione.

La terza seduta (effettuata tra il giorno 8 e il giorno 12) è indispensabile per controllare con mezzi appropriati (esame clinico, dosaggio di βHCG e/o ecografia pelvica) che la gravidanza sia stata interrotta e il prodotto del concepimento completamente espulso. In caso di gravidanza ancora in corso o di placenta ritenuta, sarà necessario un atto chirurgico complementare al fine di ottenere lo svuotamento dell'utero. A questo proposito, bisogna sottolineare che la teratogenesi da m. nella specie umana non è conosciuta ed è inoltre possibile che gli analoghi delle prostaglandine siano teratogeni.

Come in tutte le interruzioni di gravidanza, è indispensabile la prevenzione dell'immunizzazione Rh e deve essere prescritto un contraccettivo dal momento che il ciclo che segue la somministrazione del m. è ovulatorio.

*Controindicazioni*

Le controindicazioni del m. sono le seguenti: gravidanza non confermata biologicamente o per mezzo di ecografia; gravidanza con 50 giorni o più di amenorrea; sospetto di gravidanza extrauterina; insufficienza surrenale; corticoterapia di lunga durata; controindicazioni per l'impiego di analoghi sintetici delle prostaglandine; episodi di asma o di bronchite spastica; precedenti cardiovascolari (angina di petto, disturbi del ritmo, insufficienza cardiaca e ipertensione arteriosa); allergia nota al m.; problemi di emostasi; anemia.

Per precauzione e in assenza di studi specifici, l'uso del m. è sconsigliato nei seguenti casi: diabete insulinodipendente; insufficienza renale; insufficienza epatica; malnutrizione.

È ugualmente preferibile non utilizzare l'associazione mifepristone-analoghi delle prostaglandine quando siano presenti dei fattori di rischio cardiovascolare: tabagismo, iperlipidemia, diabete; deve essere anche presa in considerazione l'età della paziente.

Nell'aprile 1991, a seguito del decesso di una donna, forte fumatrice, per incidente cardiovascolare, 2 commissioni di esperti incaricate dal governo francese hanno concluso che il tabagismo e l'età maggiore di 35 anni costituiscono controindicazioni assolute all'impiego del prodotto.

**Altre potenziali indicazioni**

1. *Interruzione in avanzata fase luteinica.* – La somministrazione di 600 mg di m. la sera del giorno (presumibilmente) antecedente le mestruazioni, in donne che abbiano avuto, durante il ciclo, uno o parecchi rapporti sessuali non protetti, ha permesso di interrompere l'80% delle gravidanze (Dubois *et al.*, 1988). Le concentrazioni di βHCG devono essere controllate 8-12 giorni dopo l'assunzione di m. e, in caso la gravidanza sia ancora in atto, deve essere interrotta per via chirurgica.

2. *Preparazione della cervice ad interventi endouterini.* – L'assunzione di m. 24-48 ore prima dell'intervento di aspirazione uterina provoca un rammollimento e una dilatazione del collo dell'utero che facilita l'atto chirurgico (De Grandi e Giudici, 1989; Lefebvre *et al.*, 1990; Rådestad *et al.*, 1988). Tale trattamento farmacologico non modifica il sanguinamento preoperatorio.

3. *Morte fetale in utero.* – In uno studio di confronto con il *placebo*, su 92 pazienti con feto morto in utero, il m. (600 mg/*die* per dieci giorni) ha reso possibile, nel 63% delle pazienti, l'espulsione del feto nelle 72 ore seguenti l'inizio del trattamento (Ulmann e Dubois, 1988). Questo effetto era indipendente dall'età gestazionale e dal tempo intercorso dalla morte fetale.

4. *Interruzione terapeutica di gravidanza.* – Nelle interruzioni di gravidanza del secondo trimestre su feto vivo, il m. somministrato 36-48 ore prima dell'aborto con prostaglandine, riduce significativamente la dose di prostaglandine necessaria per l'espulsione (Rodger e Baird, 1990). Inoltre diminuisce significativamente il tempo che intercorre fra l'inizio del trattamento con prostaglandine e l'espulsione, e riduce le dosi di analgesici necessarie.

5. *Induzione del parto.* – Nelle scimmie al centosessantunesimo giorno di gravidanza (durata normale della gravidanza: 167 giorni), la somministrazione di m. seguita, dodici ore più tardi, dalla somministrazione di ossitocina, provoca modificazioni del collo dell'utero, induzione del travaglio e impegno nel canale del parto (Wolf *et al.*, 1989).

In uno studio preliminare, il m. è stato somministrato ad alcune pazienti che necessitavano dell'induzione del parto per ragioni mediche. Il trattamento ha permesso la preparazione del collo (giudicata in base al punteggio di Bishop) e in alcuni casi l'induzione del travaglio (Laffargue *et al.*, 1988). Poiché il m. attraversa la placenta, è indispensabile confermare, con studi controllati, la sua efficacia nell'interruzione del travaglio e assicurarsi dell'assenza di effetti indesiderati sul nuovo nato (Frydman *et al.*, 1985).

6. *Sindrome di Cushing.* – Il m. è un potente antagonista degli steroidi glicocorticoidei. A causa della sua azione centrale, non sembra che possa essere utilizzato nella malattia di Cushing perché provoca ipersecrezione reattiva di ACTH da parte dell'adenoma ipofisario e quindi un aumento della produzione di cortisolo da parte delle surrenali (Bertagna *et al.*, 1986). Il m. è stato utilizzato con successo in alcuni casi di ipercortisolismo da secrezione paraneoplastica di ACTH (Beaufrere *et al.*, 1987; Chrousos *et al.*, 1989).

**Conclusioni**

Il m. è stato studiato principalmente nella interruzione volontaria di gravidanza e in questo caso è stata dimostrata l'efficacia della somministrazione in sequenza di m. e di analoghi delle prostaglandine. Le modalità di prescrizione sono abbastanza complicate a causa della necessità di tre sedute presso i consultori e sono pertanto in corso studi per stabilire quanto questo nuovo metodo di interruzione di gravidanza venga accettato psicologicamente. L'interesse del m. è stato ugualmente dimostrato in altre condizioni ginecologiche e ostetriche, in particolare la morte fetale in utero, l'interruzione terapeutica di gravidanza e la dilatazione del collo dell'utero prima di un intervento endouterino.

**Bibliografia**

Beaufrere B., De Parscau L. *et al.*, *Lancet*, 1987, **2**, 217.
Bertagna X., Bertagna C. *et al.*, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1984, **59**, 25.
Bertagna X., Bertagna C. *et al.*, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1986, **63**, 639.
Chrousos G. P., Laue L. *et al.*, in Mantero F., Scoggins B. A. *et al.*, *Adrenal and hypertension: from cloning to clinic*, 4th Serono Symposium, 1989, Raven Press, New York, p. 273.
Croxatto H. B., Salvatierra A. M. *et al.*, *Clin. Endocrinol.*, 1989, **31**, 15.
De Grandi P., Giudici G., *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.*, 1989, **18**, 801.
Dubois C., Ulmann A., Baulieu E. E., *Fertil. Steril.*, 1988, **50**, 593.
Dubois C., Silvestre L., Ulmann A., *Presse Méd.*, 1989, **18**, 757.
Frydman R., Taylor S., Ulmann A., *Lancet*, 1985, **2**, 1252.
Kekkonen R., Alfthan H. *et al.*, *Fertil. Steril.*, 1990, **53**, 747.
Laffargue F., Boulot P. *et al.*, *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.*, 1988, **17**, 1095.
Lefebvre Y., Proulx L. *et al.*, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1990, **162**, 61.





Digitized by Google

Liu J. H., Garzo C., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1987, **65**, 1135.
Lukkainen T., Heikinheimo O. *et al.*, *Fertil. Steril.*, 1988, **49**, 961.
Moguilewsky M., Philibert D., in Baulieu E. E., Segal S. J., *The Antiprogestin Steroid RU 486 and Human Fertility Control*, 1985, Plenum, New York, p. 87.
Philibert D., Moguilewsky M. *et al.*, in Baulieu E. E., Segal S. J., *The Antiprogestin Steroid RU 486 and Human Fertility Control*, 1985, Plenum, New York, p. 49.
Rüdestad A. *et al.*, *Contraception*, 1988, **38**, 301.
Rodger M. W., Baird D. T., *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 1990, **97**, 41.
Romieu G., Maudelonde T. *et al.*, *Bull. Cancer*, 1987, **74**, 455.
Schaison G. *et al.*, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1985, **61**, 484.
Shoupe D., Mishell D. R., *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1987, **157**, 1421.
Silvestre L., Dubois C. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1990, **322**, 645.
Ulmann A., Dubois C., *Baillière's Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 1988, **2**, 631.
Wolf J. P. *et al.*, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1989, **160**, 45.
Yen S. C., Garzo G., Liu J., *Contraception*, 1987, Suppl. **36**, 13.

LOUISE SILVESTRE E ANDRÉ ULMANN

**MILRINONE**: v. AMRINONE E MILRINONE* (col. 315); v. anche INODILATATORI* (col. 3825).

**MILZA** [v. vol. IX, col. 1556]

## SEMEIOTICA RADIOLOGICA

SOMMARIO



I mezzi strumentali più idonei per l'esplorazione radiologica della milza, e che hanno avuto particolare sviluppo in questi ultimi anni, sono attualmente rappresentati dall'ecografia, dalla tomografia computerizzata (TC) e dalla risonanza magnetica nucleare (RMN).

### Ecografia

L'ecografia, per la grande efficacia diagnostica, per la duttilità del mezzo e per l'innocuità nei riguardi del paziente e dell'operatore si è imposta sempre più come metodica di primo approccio.

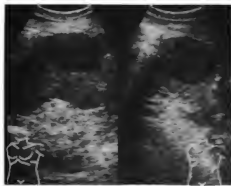



Fig. 1. Ecografia splenica (scansione trasversale *a sinistra* e scansione obliqua *a destra*). Ben evidente area ipoecogena e un po' disomogenea, con limiti netti e sinuosi, riferibile a formazione tumorale.

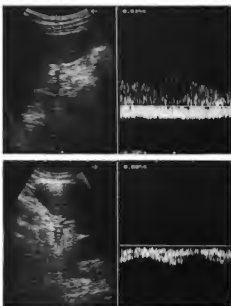



Fig. 2. Eco-Doppler dei vasi splenici. *In alto*: aspetto normale del flusso arterioso (sopra la linea) e del flusso venoso (sotto la linea). *In basso*: flusso venoso patologico con andamento «a campana» tipico delle cirrosi o delle stasi portali con flusso che risente del circolo cavale.

Patologia traumatica, ascessi, cisti, tumori (fig. 1) sono ben evidenziabili come aree anecogene o ipoecogene rispetto all'ecogenicità del parenchima normale. L'iperecogenicità è caratteristica invece di focolai calcifici.

Nelle epatomegalie, ad es. linfomatose, lo studio volumetrico della m. è più che soddisfacente e, per la ripetibilità applicativa, risulta assai utile nel *follow-up*, per evidenziare variazioni anche minime di volume, dopo terapia.

Le nuove tecniche Doppler e color-Doppler valutano con correttezza flussi arteriosi e venosi apportando elementi di grande utilità negli ipersplenismi, nella valutazione della pletora portale (fig. 2) e nel controllo delle anastomosi venose splenorenali.

L'esame ecografico in genere permette una facile diagnostica differenziale con altre masse dell'ipocondrio di sinistra o del fianco (renali, caudo-pancreatiche, surrenali, etc.). Più limitato il contributo dell'ecografia nello studio dei processi invasivi e sconfinanti la loggia splenica per i quali la TC e la RMN trovano precisa indicazione, essendo metodiche panesploranti.

### Tomografia computerizzata

Gli sviluppi tecnologici delle macchine per tomografia computerizzata (TC) hanno via via comportato significativi miglioramenti anche nello studio della m. La riduzione dei tempi di scansione e l'analisi densitometrica più precisa hanno infatti consentito l'individuazione di lesioni più pic-

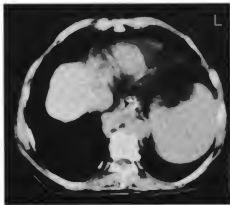
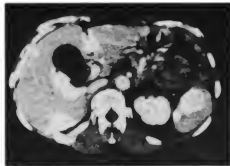



Fig. 3. Tomografia computerizzata: scansione diretta a livello della cupola diaframmatica di destra in paziente cirrotico. La m. appare ingrandita con densitometrie omogenee. Formazioni nodulari in area di 45 mm al cardias.

cole, ottimizzato le sequenze d'immagine relative alla distribuzione del mezzo di contrasto (m. di c.), esaltato gli apporti topografici, fornendo gli elementi per puntualizzare molti aspetti di semeiotica normale e patologica.

Alla TC la m. trova rappresentazione nella sua globalità nelle sezioni relative all'addome superiore come immagine di forma variabile, ovoidale od oblunga a contorni netti policiclici, di densità uguale o di poco inferiore a quella del parenchima epatico, omogenea, che aumenta di circa 50 U.H. dopo iniezione e. v. di m. di c. In tale fase si delineano meglio i vasi del tronco splenoportale, la posizione e le strutture perivasali dell'ilo, la presenza di eventuali m. accessorie. Il volume, definibile in modo esatto con il rilievo delle tre dimensioni, varia da individuo a individuo dai 120 ai 480 ml (*indice splenico*). La diagnosi di splenomegalia risulta quindi più sicura quando il viscere assume una conformazione globosa. Il solo aumento di volume inoltre ha significato di probabile ma non certo coinvolgimento neoplastico in presenza di linfadenopatie sistemiche (linfomi di Hodgkin e non-Hodgkin) e di m. da stasi portale quando si manifestino i circoli collaterali epatofughi rilevabili in pazienti cirrotici (fig. 3).

Gli aumenti di densità *in toto* della m. sono da attribuire ad accumulo di sostanze ad elevato peso atomico, ad es. siderocromatosi. Gli aumenti di densità circoscritti, documentabili peraltro anche all'esame radiologico diretto tradizionale, sono sostenuti da calcificazioni, quali esiti di patologie infettive, parassitarie, ischemiche, traumatiche o sedi di placche arteriosclerotiche se all'ilo, di localizzazioni metastatiche (fig. 4) o di forme rare come l'emangiomatosi. Incidentalmente la TC può individuare calcificazioni «fini e nubecolari» non visibili alla radiologia tradizionale.

Le immagini di ipodensità sono in generale indicative di patologia focale primitiva o secondaria. I sarcomi primitivi, spesso di orgine vascolare, si manifestano come aree rotondeggianti, a contorni sfumati, a bassa attenuazione densitometrica, talora estesi a quasi tutto il viscere. Le metastasi invece di solito appaiono con valori densitometrici più bassi, disomogenee per i frequenti aspetti colliquativi. Le cisti hanno forma rotonda, contorni netti, anche calcificati come nelle cisti da echinococco; denotano valori densitometrici invariati dopo infusione di m. di c. Gli ascessi hanno densità alquanto più elevata delle cisti e assumono il contrasto in periferia così come le pseudocisti del pancreas che si sono estese alla m. (fig. 5).

Le ipodensità triangoliformi sottocapsulari sono tipiche dell'infarto splenico, mentre le ipodensità nodulari in corso di linfomi confermano la partecipazione del viscere al processo morboso.

I reperti molteplici in corso di patologia traumatica dipendono dalla sede e dall'entità della lesione: fini linee di frattura intraparenchimali nei traumi più contenuti, aree ipodense multiple con interruzione dei profili ed emoperitoneo negli spappolamenti, raccolte ematiche circoscritte in sede sottocapsulare nelle emorragie a decorso più lento, spesso segno premonitore di *rottura in due tempi della m.*

**Risonanza magnetica nucleare**

La risonanza magnetica nucleare (RMN), per la possibilità di acquisire immagini sui diversi piani spaziali permette di

Fig. 4. Tomografia computerizzata. Scansione in prossimità dell'ilo splenico. Nella m. sono presenti estese aree calcifiche riferibili a metastasi da carcinoma ovarico. Analoghi aspetti sono evidenti anche nel fegato.

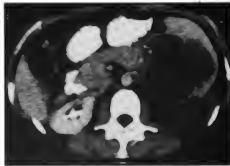



Fig. 5. Tomografia computerizzata. Scansioni a livello pancreatico in esiti di pancreatite acuta. Formazione cistica plurilobata, che dalla coda pancreatica si espande entro la m.; concomita versamento posteriore alla m. stessa.



Digitized by Google

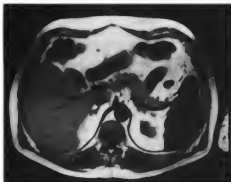



Fig. 6. Risonanza magnetica nucleare. Scansione assiale dell'alto addome in soggetto non affetto da patologia splenica e portatore di calcolosi colecistica. Risultano bene evidenti i rapporti tra la m. e gli organi contigui.

valutare con precisione superiore a qualsiasi altra metodica la forma, il volume ed i rapporti della m. La struttura del parenchima splenico appare omogeneamente intensa in tutte le sequenze e tale caratteristica può mascherare aree patologiche (fig. 6). Per ovviare a questo inconveniente recentemente sono stati sperimentati particolari m. di c. paramagnetici costituiti da particelle di ossido di ferro che, accumulandosi nel reticoloendotelio, ridurrebbero l'intensità del segnale splenico mettendo in evidenza aree di patologia che non accumulano il contrasto. Sarebbe così possibile distinguere le splenomegalie reattive, ad es. da ipertensione portale, da quelle metastatiche o linfomatose nelle quali le aree coinvolte non accumulerebbero il contrasto apparendo come zone a segnale più intenso.

L'ematoma splenico post-traumatico è di norma ben riconoscibile per l'intensità del segnale nelle sequenze pesate in $T_1$ che aumenta nelle sequenze in $T_2$ per la presenza di composti di degradazione dell'emoglobina.

Le cisti displasiche sono pure ben riconoscibili come aree rotondeggianti di ipointensità nelle sequenze $T_1$-pesate e di iperintensità nelle sequenze $T_2$-pesate. Le cisti da echinococco invece presentano intensità di segnale variabile e pareti ispessite, talora calcificate.

**Altri impieghi della radiologia**

È da ricordare ancora la *radiologia interventistica*, con procedure di embolizzazione (v. EMBOLIZZAZIONE TERAPEUTICA*) per realizzare la occlusione dell'arteria splenica (aneurismi, fistole arterovenose, traumi) o la riduzione del parenchima splenico funzionante (ipersplenismi). La mortalità post-procedurale riportata nelle poche statistiche disponibili è dovuta quasi esclusivamente alle complicanze settiche.

**Bibliografia**

De Gaetano A. M., Maresca G., De Franco A. *et al.*, *Radiol. Med.*, 1991, **82**, 118-131.
Lee J. K. T., Sagel S. S., Stanley R. J., *Computed Body Tomography with MRI Correlation*, 1989, Raven Press, New York.
Pavone P., Buoni C., Giuliani S., Mastantuomo M., Simonetti C., in Passariello R. ed., *Diagnostica con risonanza magnetica*, 1990, SIRM-Aggiornamento professionale continuativo, Roma.
Weissleder R., Elizondo G., Stark D. D., *AJR*, 1989, **152**, 175-180.

SERGIO ROMANI, COSIMO DI MAGGIO, LUIGI PESCARINI E FRANCESCO CANOIANI

## MINERALOMETRIA OSSEA

F. *densitométrie osseuse*. - I. *bone densitometry; bone mineral measurement*. - T. *Knochendensimetrie*. - S. *densitometria huesa*.

SOMMARIO



**Introduzione**

La *mineralometria* (o *densitometria*) ossea si prefigge di misurare la quantità di minerale contenuto nelle ossa e di esprimerlo come densità minerale ossea o come grammi totali di calcio. Nella pratica clinica i due termini di fatto si equivalgono; tuttavia il termine densitometria dovrebbe essere riservato alle sole metodiche che permettono la misurazione di un volume di tessuto osseo e che possono esprimerne la densità fisica (g/cm³).

La possibilità di valutare *in vivo* il contenuto minerale osseo è sempre stata un obiettivo primario per gli studiosi del metabolismo fosfocalcico, ma con la radiologia tradizionale si ottengono indicazioni orientative sullo stato di mineralizzazione dello scheletro solo quando questo ha perduto almeno il 30-50% del contenuto minerale. Da qualche anno, e in particolare con lo sviluppo dei computer, sono state messe a punto diverse tecniche mineralometriche e in questo articolo considereremo dapprima i diversi e più diffusi tipi di m. o., in secondo luogo, altre tecniche più raffinate ma meno usate e, infine, l'impiego e l'utilità della mineralometria in clinica.

**Mineralometria o absorpziometria ossea**

*Mineralometria a singolo raggio fotonico*

La *mineralometria a singolo raggio fotonico* (*Single Photon Absorptiometry*: SPA) è stata proposta da Cameron e Sorensen negli anni '60. Il segmento osseo in esame (estremo distale dell'avambraccio dell'arto non dominante) viene interposto fra una sorgente monocromatica gamma emittente (iodio 125 o americio 241) e un rilevatore di radioattività costituito da un cristallo di NaI (Tl) accoppiato a un fotomoltiplicatore; questo invia il segnale ricevuto a un analizzatore che calcola la attenuazione del fascio di radiazioni operata dal segmento osseo interposto e dai tessuti molli. I cambiamenti di intensità del fascio, rilevati dopo l'attraversamento dei tessuti, sono proporzionali al contenuto minerale osseo e vengono espressi in g/cm².

L'esplorazione ai 2/3 distali dell'avambraccio (radio e ulna) informa prevalentemente sul contenuto minerale del tessuto osseo compatto che, a questo livello, ne costituisce il 70% del totale; quella dell'estremo distale dell'avambraccio, al contrario, informa sul contenuto minerale dell'osso spongioso. I valori ottenuti sono sufficientemente bene estrapolabili al resto dello scheletro.

La mineralometria a fotone singolo ha trovato grande diffusione ed è stata molto utile in studi su larghi strati della popolazione a rischio di osteoporosi; però presenta notevoli difficoltà in studi longitudinali (condotti cioè sullo stesso paziente) perché esistono seri problemi di posizionamento e riposizionamento in grado di modificare surrettiziamente il valore rilevato di densità minerale ossea; è sufficiente un piccolo spostamento in alto o in basso della sezione esplorata per condizionare erronei incrementi o rispettivamente decrementi della misura.





Digitized by Google

*Mineralometria a doppio raggio fotonico*

La *mineralometria a doppio raggio fotonico* ha costituito un notevole vantaggio metodologico in m. o. e, a seconda delle tecniche, sono state impiegate sorgenti radioattive differenti.

Nella *DPA* (*Dual Photon Absorptiometry*) viene impiegata una sorgente di gadolinio 153, un radioisotopo che emette fotoni dotati di energia differente (40 e 100 keV rispettivamente).

Nella *DPX* (o *DEXA*, *Dual Energy X-Ray Absorptiometry*) la sorgente è costituita da un tubo catodico che emette alternativamente raggi X di differente energia da 70 e 140 keV.

L'impiego del doppio fotone ha eliminato la necessità di disporre, attorno al segmento osseo in esame, un manicotto di acqua tale da rendere uniforme lo spessore dei tessuti molli circostanti e consente misurazioni a livello dei corpi vertebrali e dell'estremo superiore del femore, aree di particolare interesse fisiopatologico.

In linea di principio il dispositivo di misura è analogo a quello della mineralometria a fotone singolo con la variante di un analizzatore a doppio canale e di un computer più sofisticato per l'elaborazione dei dati.

Le misure si effettuano per sezioni trasversali a livello lombare o femorale e i valori ottenuti possono essere espressi in g/cm² come BMD (*Bone Mineral Density*) (fig. 1) oppure in g/cm² come BMC (*Bone Mineral Content*).

Purtroppo i mineralometri a gadolinio 153 presentano alcuni inconvenienti: per es., l'alto costo della sorgente che deve essere cambiata ogni anno, la necessità di correggere via via il *software* dell'apparecchio mediante particolari algoritmi per ovviare all'invecchiamento della sorgente e il flusso fotonico non molto elevato che si traduce in più lunghi tempi di scansione (20-40 min).

I mineralometri a raggi X, invece, offrono un flusso fotonico più elevato con aumento della precisione e riduzione dei tempi di esame (5-10 min), una durata di vita molto maggiore e un minore costo della sorgente.

Ma la mineralometria lombare a doppio fotone, anche se può essere considerata una metodica precisa e rapida, è gravata da inconvenienti legati all'anatomia della regione esplorata: difetti di posizionamento e riposizionamento della colonna lombare soprattutto se questa è deformata per cifosi o scoliosi, scarsa visualizzazione e identificazione degli spazi intervertebrali, schiacciamenti vertebrali, presenza di osteofiti o ponti ossei; queste anomalie incidono profondamente sulla popolazione anziana nella quale tale metodica trova particolare applicazione.

Quindi, anche se i valori mineralometrici a livello delle vertebre lombari sono forse fra i più eloquenti per una valutazione del contenuto minerale in condizioni normali e nelle malattie con osteopenia o con demineralizzazione, sta oggi prevalendo la tendenza a introdurre nella pratica un metodo di valutazione del contenuto minerale osseo sul corpo intero che offra la possibilità di superare questi inconvenienti di posizionamento e soprattutto una assoluta imparzialità di misura.

Fig. 1. Andamento della densità minerale ossea (BMD: *Bone Mineral Density*) espressa in g/cm². Nei soggetti normali, di età variabile fra 20 e 100 anni, i valori normali sono compresi fra le due linee disegnate nel grafico.

*Densitometria sul corpo intero*

La *densitometria sul corpo intero* consente un'analisi accurata e precisa del contenuto minerale dello scheletro nella sua interezza ed è stata dimostrata la buona correlazione fra i valori ottenuti con questo metodo rispetto a quelli forniti dall'attivazione neutronica.

La *densitometria ossea total body* impiega mineralometri a doppio fotone: DPA con sorgente di gadolino 153 oppure DEXA con sorgente radiologica a doppia emissione. L'indagine comporta una scansione trasversale sul corpo intero che però avviene in vario modo a seconda delle tecniche.

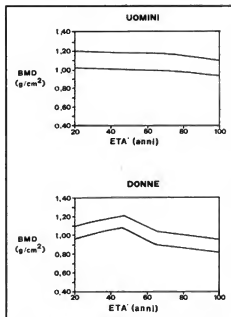
La *tecnica DPA* esegue la scansione a una velocità di 2 cm/sec con intervalli longitudinali di 1,5 cm; *pixel* pari a 5 × 15 mm, in numero totale di 15.000 dei quali 3000 corrispondenti a tessuto osseo.

La *tecnica DEXA* esegue la scansione a una velocità di 8 oppure di 16 cm/sec con intervalli longitudinali di 1 cm; *pixel* pari a 4,8 × 9,6 mm in numero totale di 22.000 dei quali 4500 corrispondono a tessuto osseo. I valori normali rilevati con questa tecnica sono riportati nella tab. 1.

Entrambi i dispositivi sono accoppiati a un calcolatore per l'analisi dei dati e per la suddivisione semiautomatica dello scheletro in sette regioni anatomiche che possono essere analizzate anche separatamente.

I dati forniti comprendono: il *contenuto minerale totale del corpo* (TBBM) del quale il calcio rappresenta il 38%; la *densità ossea totale* (TBD) e i valori corrispondenti alle aree di maggiore interesse (per es. la colonna vertebrale, espressione prevalente di tessuto osseo spongioso e gli arti, espressione di tessuto osseo compatto).

Il coefficiente di variazione (precisione) per la densità ossea totale nel soggetto normale è risultato dello 0,82% per la DPA e dello 0,34% per la DEXA; nei pazienti osteoporotici il coefficiente di variazione è stato dello 0,70% con entrambi i metodi.

I valori di irradiazione in densitometria *total body* sono irrilevanti: 5-10 mrem per la DPA e 2-4 mrem per la DEXA.

**TAB. I. DENSITOMETRIA CORPOREA TOTALE (DEXA) NEGLI ITALIANI**
**(g/cm²; valori normali per decenni)**
(da Nuti R. *et al.*, 1991)

| Età | 21-30 | 31-40 | 41-50 | 51-60 | 61-70 | 71-80 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Femmine** | | | | | | |
| Massimi | 1,17 | 1,17 | 1,18 | 1,13 | 1,09 | 1,08 |
| Minimi | 0,98 | 1,03 | 1,01 | 0,99 | 0,97 | 0,95 |
| **Maschi** | | | | | | |
| Massimi | 1,28 | 1,18 | 1,26 | 1,19 | 1,24 | 1,13 |
| Minimi | 1,07 | 1,01 | 1,04 | 1,06 | 1,08 | 1,05 |

**Tecniche densitometriche meno comuni**

*Tomografia quantitativa computerizzata*

La *tomografia quantitativa computerizzata* (QCT: *quantitative computed tomography*) viene considerata la tecnica densitometrica propriamente detta e si basa su una analisi di confronto tra la capacità di attenuazione esercitata su un fascio incidente di raggi X dalle vertebre LI-LIV e da un fantoccio di perspex contenente quattro soluzioni standard di fosfato di potassio in concentrazioni scalari da 0,5 a 200 mg/ml. Le misure ottenute vengono confrontate con la curva di calibrazione dei quattro standard e i risultati espressi in mg di equivalente minerale per cm³.

Il metodo presenta limiti di natura tecnica (influsso della variabile presenza di grasso nel midollo osseo) ed etica (l'irradiazione del paziente è infatti valutabile fino a 200-1000 rem di dose assorbita).

V. anche: osso*.

*Attivazione neutronica in vivo*

La *attivazione neutronica in vivo* (TBC-NAA) è uno dei metodi più raffinati per valutare il contenuto totale di calcio dell'organismo. Quando il soggetto in esame viene investito da un flusso neutronico, il $^{48}$Ca (isotopo stabile del calcio contenuto nell'organismo) si trasforma in $^{49}$Ca, isotopo instabile dotato di una emivita di 8,7 min, il quale emette fotoni gamma (3 meV); l'intensità di questa emissione è proporzionale alla quantità di calcio stabile esposto al flusso neutronico e pertanto con un conteggio esterno dal corpo intero è possibile risalire al calcio totale dell'organismo di cui il 99% è costituito dal calcio scheletrico.

Il metodo ha sostanziali limiti tecnologici, economici ed etici per la elevata dose di radiazioni alla quale il paziente viene esposto che può essere valutabile a 5000 mrem di dose assorbita.

**Impieghi clinici**

La mineralometria viene impiegata soprattutto nelle malattie metaboliche dello scheletro associate a diminuzione del contenuto minerale (osteoporosi e osteomalacie), ma essa ha notevole importanza anche nelle malattie eburneizzanti e iperostotiche, che però sono di osservazione più rara e di diagnosi più facile. Nei due sessi per ciascun metodo mineralometrico sono state costruite delle bande di correlazione fra densità minerale ossea, sesso ed età; in questo modo, eseguita la misura, diventa facile stabilire se la persona in esame rientra nel *range* di normalità oppure se si trova al disotto (o al disopra) dello stesso per il corrispondente gruppo di età.

Quando il valore cade molto al disotto dei limiti inferiori della norma si parla di persona «a rischio di frattura», dato che il valore mineralometrico può essere un indice di osteopenia, cioè del diradamento della trama ossea, e pertanto della sua fragilità. Nelle osteoporosi di media gravità valori intorno a 0,80 g/cm² sono molto frequenti mentre nelle osteoporosi gravi può capitare di imbattersi in valori di 0,60 o meno.

Nel caso di persone con basso indice mineralometrico si è parlato (e si continua a parlare) di «diminuzione della massa ossea»: anche se la dizione corretta è «diminuzione del contenuto minerale osseo». Bassi valori di mineralometria non sono affatto esclusivi di osteoporosi, cioè di osteopenia per diradamento delle trabecole ossee e assottigliamento delle compatte con prevalenza degli spazi midollari; la osteomalacia offre infatti le massime riduzioni dei valori mineralometrici pur con una massa ossea quantitativamente normale. È noto che nella osteomalacia la produzione della matrice organica dell'osso è normale anche se essa resta non completamente calcificata ed è per questo che lo scheletro fornisce bassi indici mineralometrici. Purtroppo oggi in molti casi si formula la diagnosi di osteoporosi (v.; v.*) sulla sola scorta del dato mineralometrico; ma questo è assolutamente sbagliato: una bassa m. o. può essere indice di osteomalacia e non necessariamente di osteoporosi.

Qualsiasi trattamento efficace di un'osteoporosi sarà in grado di arrestare la naturale perdita di densità minerale ossea o di incrementare i valori mineralometrici (ma solo di poco!, perché ciò richiede la ricostruzione del tessuto osseo all'interno degli spazi midollari). Al contrario, la terapia più corretta di un'osteomalacia può far aumentare drammaticamente il contenuto minerale osseo (fino al 50% in un anno) in quanto il tessuto osteoide non calcificato già esiste e questa enorme massa ossea scarsamente calcificata grazie a una cura opportuna è in grado di captare i sali di calcio venendone in breve tempo ricalcificata.

Pertanto è opportuno non considerare un basso valore di m. o. come sinonimo di «osteoporosi», né formulare diagnosi di osteoporosi su questo unico dato.

L'indagine mineralometrica trova anche indicazione nel controllo della terapia cortisonica a lungo termine, nella diagnosi dell'iperparatiroidismo primitivo asintomatico e nel controllo dei pazienti con osteopenia vertebrale (Johnston *et al.*, 1989; 1991).

Le prospettive future della mineralometria sono promettenti: il medico avrà a disposizione una metodica di valutazione esatta del contenuto minerale osseo dei segmenti esplorati e con la mineralometria sul corpo intero potrà disporre oltre che dei valori globali di calcio scheletrico anche e soprattutto di un metodo imparziale per valutare l'effetto di eventuali interventi terapeutici. Tuttavia, si dovranno tenere presenti i limiti di questo esame strumentale, in particolare la impossibilità di desumere dagli indici mineralometrici il valore reale di «massa ossea» intesa nel senso anatomico della parola.

**Bibliografia**


Cameron Jr., Sorensen J. A., *Science*, 1963, **142**, 230.
Cohn S. H., *Med. Phys.*, 1981, **8**, 145.
Genant H. K., Cann C. E., Ettinger B., Gordon G. S., *Ann. Intern. Med.*, 1982, **97**, 699.
Johnston C. C. *et al.*, *J. Bone Miner. Res.*, 1989, **4** (Suppl. 2), 1-28.
Johnston C. C. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1991, **324**, 1105.
Mazess R. B., Sorensen J. A., Hanson J. A., in Dequeker J. *et al.*, *Bone mineral measurements by photon absorptiometry: methodological problems*, 1988, University Press, Leuven.
Nuti R., Martini G., Righi G., Frediani B., Turchetti V., *J. Bone Miner. Res.*, 1991, **6**, 681.
Nuti R., Righi G., Martini G., Turchetti V., Lepore C., Caniggia A., *J. Nucl. Med. All. Sci.*, 1989, **31**, 213.
Peppler W. W., Mazess R. B., *Calcif. Tissue Intern.*, 1981, **33**, 353.
Wahner H. W., Dunn W. L., Mazess R. B., *Radiology*, 1985, **156**, 203.
Wahner H. W., Riggs B. L., Beabout J. W., *J. Nucl. Med.*, 1977, **18**, 432.


ANGELO CANIGGIA





Digitized by Google

## MINOXIDILE

F. *minoxidil.* - I. *minoxidil.* - T. *Minoxidil.* - S. *minoxidil.*

Il minoxidile (2,4 diamino-6-piperidinilpiridina-3-ossido) è un potente agente antipertensivo (Loniten®) sintetizzato nel marzo 1963 negli U.S.A. (V. IPOTENSIVE SOSTANZE, VIII, 508).

Durante le indagini cliniche, iniziate nel 1969, con l'impiego del m. nel trattamento dell'ipertensione arteriosa, furono segnalate le prime osservazioni sull'insorgenza di casi di ipertricosi in alcuni pazienti in cura.

In seguito alle continue segnalazioni della comparsa di ipertricosi, dopo somministrazione del farmaco, è stata iniziata nel 1980, la sperimentazione clinica nell'alopecia androgenetica, impiegando una soluzione al 2% per via topica (Regaine®; Normoxidil® etc.).

Nel 1985 sono stati condotti ulteriori studi sul m. per uso topico, che hanno confermato che la soluzione al 2% rappresenta la concentrazione più bassa del farmaco, capace di stimolare la ricrescita dei capelli nell'alopecia androgenetica, senza indurre modificazioni significative della pressione arteriosa.

Il meccanismo d'azione mediante il quale il m. se somministrato per via sistemica o applicato topicamente, stimola la crescita del capello, non è ancora completamente chiarito. È stato dimostrato che l'effetto antipertensivo del farmaco sarebbe dovuto ad una vasodilatazione diretta, indotta dal suo metabolita attivo: il solfato di m. ($MxSO_4$). È stato ipotizzato inoltre che il $MxSO_4$ possa agire come un agonista del canale del potassio, aumentando la permeabilità della membrana a questo ione, con una iperpolarizzazione e successiva riduzione dell'influsso di ioni $Ca^{2+}$. Il risultato finale è una diminuzione della concentrazione del Ca libero citoplasmatico con vasodilatazione. Il rapporto tra il meccanismo d'azione proposto per il $MxSO_4$ nell'ipertensione arteriosa ed il suo effetto sulla crescita dei capelli, è ancora sconosciuto.

È stata suggerita una possibile azione indiretta del farmaco, come la vasodilatazione con conseguente aumento del flusso ematico nella papilla dermica o la possibile irritazione locale dovuta allo stesso m. o ad uno o più componenti del veicolo usato per l'applicazione topica. Il farmaco agirebbe direttamente a livello della papilla dermica del follicolo e delle cellule della matrice del capello.

I numerosi studi sull'uso topico del m. nell'alopecia androgenetica maschile sembrano confermare una significativa superiorità del farmaco, rispetto al *placebo*, nell'indurre un incremento dei capelli «non vellus» nelle aree alopeciche dei soggetti trattati. I capelli «non vellus» comprendono la classe dei capelli terminali e la classe dei capelli indeterminati; i capelli «vellus» rappresentano la classe dei capelli corti, fini, non pigmentati, incapaci di procurare una copertura evidente delle zone alopeciche. L'alopecia androgenetica è causata, in soggetti geneticamente predisposti, dalla progressiva trasformazione, a seguito degli stimoli ormonali, del capello terminale in capello «vellus».

La caratteristica clinica di maggiore importanza dell'alopecia androgenetica è il graduale diradamento dei capelli, dovuto alla perdita dei capelli terminali che vengono sostituiti da capelli «vellus», più corti e sprovvisti di pigmento (fig. 1).

L'evento morfologico primario è rappresentato dalla miniaturizzazione dei follicoli dei capelli terminali; la riduzione del follicolo è indubbiamente accompagnata dall'accorciamento del ciclo di crescita dei capelli.

La valutazione morfometrica delle biopsie del cuoio capelluto dei pazienti che hanno applicato il m. topico, in un veicolo composto da glicole propilenico, acqua ed etanolo, ha fatto rilevare la presenza di follicoli più grandi rispetto alle biopsie degli stessi individui eseguite prima del trattamento. In nessuno dei vari studi morfologici eseguiti su pazienti trattati sono state segnalate osservazioni riguardo allo sviluppo di nuovi follicoli (neogenesi follicolare). La papilla dermica del follicolo del capello apparentemente controlla sia la crescita che la differenziazione delle cellule della matrice, e con l'uso topico del m. non sono stati osservati cambiamenti displastici od atipici nell'epitelio germinativo follicolare; pertanto si è concluso che il sito di azione più probabile del farmaco sia sulle cellule mesenchimali della papilla dermica follicolare. Una caratteristica peculiare del m. è rappresentata dal mantenimento o dall'accrescimento della dinamica normale dell'interazione stromoepiteliale che avviene tra la papilla dermica del follicolo e la proliferazione delle cellule della matrice.

Fig. 1. Alopecia androgenetica. (*Osservazione degli AA.*).

Dopo 4 mesi di trattamento, circa il 25% dei pazienti presenta una minima crescita di capelli, il 7% una ricrescita moderata e l'1% una notevole ricrescita. L'effetto appare più favorevole negli uomini al disotto dei 40 anni.

Saranno necessari comunque ulteriori studi per poter meglio approfondire il meccanismo d'azione del farmaco, definire più compiutamente la durata del trattamento farmacologico, oltre che la sorveglianza per la comparsa di manifestazioni collaterali di rilievo.

Recentemente infatti sono stati segnalati nel sesso femminile alcuni casi di ipertricosi insorti a distanza dalla sede di applicazione del farmaco, in particolare in corrispondenza del volto. Inoltre l'uso prolungato del farmaco anche per uso topico, può in alcuni soggetti provocare una persistente ipotensione e disturbi del ritmo cardiaco.

**Bibliografia**

Burton J. L., Marshall A., *Br. J. Dermatol.*, 1979, **70**, 593.
Clissold S. P., Heel R. C., *Drugs*, 1987, **33**, 107-122.
Cohen R. L., Alves M. E. A. F., Weiss V. C. *et al.*, *J. Invest. Dermatol.*, 1984, **82**, 90.
Gobé G., Strutton G. M., *Acta Dermatol. Venereol.* (Stockh.), 1989, **69**, 190.
Headington J. T., *Dermatologica*, 1987, **175** (Suppl. 2), 19.
Johnson G. A., Barsuhn K. J., McCall J. M., *Biochem. Pharmacol.*, 1982, **31**, 2949.
Katz H. I., Kien N. T., Prawer S. E., Goldman S. J., *J. Am. Acad. Dermatol.*, 1987, **16**, 711.
Koperski J. A., Orenberg E. K., Wilkinson D. I., *Arch. Dermatol.*, 1987, **123**, 1483.
Olsen E. A., Weiner M. S., Amara I. A., DeLong E. R., *J. Am. Acad. Dermatol.*, 1990, **22**, 643.
Partorfide G. C. *et al.*, *Drugs Invest.*, 1990, **2**, 17.
Savin R. C., *J. Am. Acad. Dermatol.*, 1987, **16**, 696.
Zappacosta A. R., *N. Engl. J. Med.*, 1980, **18**, 1480.

ALDO MORRONE E MARCELLO FAZIO



Digitized by Google

## MIOCARDIO INTONTITO E IBERNATO

I. *stunned myocardium; hibernating myocardium.*

SOMMARIO



### Definizione e introduzione

I termini *stunned* e *hibernating myocardium* (miocardio intontito [o stordito] e ibernato) sono frutto della felice opera di sintesi effettuata rispettivamente da Braunwald (1982) e da Rahimtoola (1989), i quali hanno compreso come nei pazienti con cardiopatia ischemica la disfunzione contrattile non fosse sempre riconducibile alla necrosi miocardica, ma fosse secondaria a più complesse interrelazioni tra cellule con differenti gradi di ischemia. Infatti se è vero che l'ischemia determina la perdita della capacità contrattile della cellula miocardica, tuttavia il riscontro di un deficit contrattile regionale non implica automaticamente la completa morte cellulare. È stato provato, infatti, come cellule miocardiche vitali, ma soggette a periodi di ischemia, presentino una depressione della contrattilità, anche di lunga durata, la quale ovviamente contribuisce alla disfunzione ventricolare globale.

Per chiarire meglio l'argomento desidereremmo operare una chiara distinzione di ordine semantico: con il termine di *stunned myocardium* (miocardio intontito o stordito) si intende una disfunzione meccanica post-ischemica reversibile, cioè un deficit contrattile che persiste transitoriamente (ore o giorni) in un tessuto ancora vitale in quanto salvato dalla riperfusione. Il termine *hibernating myocardium* (miocardio ibernato) descrive invece un tessuto cronicamente ischemico, in quanto irrorato da vasi coronarici stenotici, le cui cellule, pur vitali, presentano una ridotta contrattilità causata dalla cronica riduzione del flusso coronarico. In questo caso la depressa funzione contrattile potrebbe rappresentare un meccanismo protettivo per i miociti in funzione della ridotta richiesta di $O_2$.

La confusione terminologica recentemente insorta è probabilmente secondaria al proliferare di diverse definizioni ed alla presenza di una caratteristica comune ad entrambi i fenomeni rappresentata dalla reversibilità del deficit contrattile e quindi dall'esistenza, in entrambi i casi, di un miocardio ancora vitale. La principale differenza è quindi legata al fatto che lo *stunned myocardium* rappresenta un fenomeno acuto secondario alla riperfusione di un territorio divenuto improvvisamente ischemico, mentre invece l'*hibernating* è frutto della ipoperfusione coronarica cronica. La tab. I contribuisce comunque all'esemplificazione di questi fenomeni.

### Evidenze cliniche

Numerosi studi sperimentali effettuati negli anni '70-'80 hanno dimostrato come il tessuto miocardico, sottoposto a periodi di ischemia di durata tale da non causare la completa morte cellulare, mostri un ritardato ritorno alla normale funzione contrattile al ripristino del flusso coronarico. Queste osservazioni sperimentali hanno trovato conferma in alcune situazioni cliniche: ad es., il riscontro di un progressivo miglioramento della funzione miocardica sisto-diastolica a distanza dal fenomeno acuto nei pazienti riperfusi dopo trombolisi coronarica nell'infarto o in quelli con insufficienza cardiaca transitoria (tale da richiedere un supporto inotropo e/o un'assistenza meccanica circolatoria) dopo intervento cardiochirurgico in circolazione extracorporea. Queste osservazioni hanno documentato come in questi casi il recupero della contrattilità miocardica possa richiedere un arco di tempo variabile da ore a settimane; più rapido appare invece il recupero dopo circolazione extracorporea. Il fenomeno dello *stunning* è stato osservato anche in pazienti con angina da sforzo od instabile dopo periodi ischemici prolungati e anche dopo angioplastica coronarica.

L'*hibernating myocardium*, ovvero la persistente riduzione contrattile in corso di ischemia cronica, è stato individuato grazie all'osservazione angiografica che zone miocardiche asinergiche possono essere stimolate alla contrazione dopo somministrazione di nitroglicerina o di catecolamine o con potenziamento post-extrasistolico. Esse sono inoltre in grado di recuperare la capacità contrattile dopo rivascolarizzazione coronarica.

TAB. I. CARATTERISTICHE DIFFERENZIALI TRA *STUNNED* ED *HIBERNATING MYOCARDIUM*
(da Marban, 1991, modificata)

| *Stunning* | *Hibernating* |
|---|---|
| Disfunzione contrattile successiva all'ischemia | Disfunzione contrattile contemporanea ad una riduzione del flusso coronarico |
| Assenza di necrosi | Assenza di necrosi |
| Scarse riserve di ATP | Normali depositi di fosfati ad alta energia |
| Lentamente reversibile | Rapidamente reversibile |

### Meccanismi fisiopatologici

Dal punto di vista patogenetico le caratteristiche di questi fenomeni sono assai complesse e non ancora chiarite. Per lo *stunned myocardium* gli studi sperimentali hanno mostrato come la disfunzione sisto-diastolica possa essere secondaria ad un difetto dei meccanismi energetici cellulari (metabolismo dei fosfati ad alta energia, riduzione delle riserve di ATP), mentre la struttura cellulare rimane morfologicamente normale con solo minime alterazioni ultrastrutturali inerenti le creste mitocondriali.

Le ipotesi patogenetiche sono attualmente molteplici: un difettoso meccanismo di utilizzazione dell'energia a livello cellulare (esaurimento dei depositi di fosfati ad alta energia e/o anormalità nei processi di trasduzione ed utilizzazione dell'energia); un danno secondario all'afflusso intracellulare di calcio; la presenza di radicali liberi d'ossigeno; alterazioni post-ischemiche del microcircolo secondarie alla azione dei neutrofili.

Tra i numerosi meccanismi proposti, tre appaiono più plausibili: 1) la generazione di radicali liberi d'ossigeno; 2) il sovraccarico di calcio; 3) il disaccoppiamento eccitazione-contrazione.

L'importanza dei radicali liberi d'ossigeno è quella più ampiamente confermata da studi sull'animale, mentre il ruolo del sovraccarico di calcio è stato identificato solamente *in vitro*. La terza ipotesi, legata all'inadeguato rilascio di calcio dal reticolo sarcoplasmatico con il conseguente disaccoppiamento eccitazione-contrazione, non è ancora ben chiarita. In conclusione è probabile che più meccanismi contribuiscano alla patogenesi dello *stunned myocardium* interagendo vicendevolmente. Infatti la formazione di radicali liberi di ossigeno può alterare la funzione del reticolo sarcoplasmatico ed entrambi i processi possono contribuire al sovraccarico di calcio il quale a sua volta può esacerbare il danno determinato dai radicali di



Digitized by Google

ossigeno. Alla luce di questi supposti meccanismi lo *stunned myocardium* potrebbe essere avvicinato al danno da riperfusione, privilegiando l'azione citotossica dei radicali liberi d'ossigeno, il sovraccarico di calcio e l'azione negativa dei neutrofili (v. RIPERFUSIONE, DANNO DA*).

È chiaro come l'occorrenza di tutti questi fenomeni citotossici possa fare esistere contemporaneamente aspetti diversi nello stesso tessuto e quindi si possano riscontrare contemporaneamente zone di *stunning*, accelerazione dei processi necrotici in cellule comunque destinate alla morte cellulare, eventuale necrosi di cellule non destinate altrimenti all'evoluzione infartuale, fenomeni aritmici. Purtroppo clinicamente, eccettuate le manifestazioni aritmiche, le conseguenze anatomiche di questi fenomeni sono difficilmente quantizzabili. È chiaro tuttavia come la conoscenza di effetti potenzialmente negativi indotti o legati alla riperfusione non debba ovviamente limitare i tentativi di ricanalizzazione miocardica in fase acuta dell'IMA (infarto miocardico acuto), ma semplicemente renda necessaria la ricerca di altri presidi da affiancare ad essi in grado di proteggere il miocardio anche da questi danni.

Per quanto riguarda il miocardio ibernato, invece, le conoscenze a nostra disposizione sono ancora scarse; il rapido miglioramento della funzione contrattile ottenuto dopo rivascolarizzazione di un territorio ischemico esclude che il deficit sia dovuto ad un'alterazione istologica irreversibile. Le ipotesi più accreditate attribuiscono ad uno stato di ischemia cronica od a ripetuti episodi ischemici la responsabilità di mantenere uno stato di cronico *stunning* del miocardio. Esemplificando, il miocardio ibernato può essere descritto come un particolare meccanismo di adattamento della cellula miocardica, la quale privilegia l'utilizzo delle scarse energie disponibili al mantenimento del metabolismo di membrana, abdicando temporaneamente alla funzione contrattile.

**Importanza clinica e prospettive terapeutiche**

Il trasferimento sul piano clinico dei concetti descritti ha importanti conseguenze diagnostiche e terapeutiche. Esso infatti impone un differente atteggiamento diagnostico e terapeutico nell'IMA e, nei coronaropatici con depressa contrattilità ventricolare, la ricerca di una quota di miocardio ancora vitale, *stunned* o *hibernating* che sia, permettendo di prevedere la possibilità di un parziale recupero funzionale, sia esso spontaneo che indotto da interventi terapeutici.

La presenza di miocardio vitale all'interno di regioni necrotiche può essere individuata dimostrando direttamente la sua attività metabolica od evocando la persistente capacità di rispondere a stimoli fisiologici o farmacologici.

Gli strumenti diagnostici a disposizione si avvalgono della valutazione della risposta contrattile evocata da stimoli meccanici (battito post-extrasistolico) o dalla stimolazione farmacologica (nitroderivati o amine simpaticomimetiche) oppure della valutazione della vitalità cellulare mediante scintigrafia miocardica o tomografia ad emissione di positroni (PET). Quest'ultima metodica offre interessanti prospettive, in quanto permette sia lo studio dell'attività metabolica del miocardio — e quindi l'identificazione del tessuto vitale — utilizzando un analogo del glicoso (F-18-desossiglicoso), sia lo studio della sua perfusione tramite la N-13-ammoniaca la cui captazione è proporzionale al flusso. Il miocardio ibernato sarebbe identificato dalla presenza di una regione acinetica con riduzione del flusso ematico, ma nella quale è presente un'attività metabolica. Lo *stunned myocardium* presenterebbe invece una regione con alterazione contrattile, ma con perfusione ematica adeguata ed attività metabolica normale o anche aumentata. Queste due zone possono quindi essere differenziate da quelle infartuate in cui si assiste ad una riduzione persistente sia della perfusione che del metabolismo.

Nella clinica, il ruolo diagnostico della stimolazione meccanica e farmacologica è nel complesso limitato da problemi di sensibilità e specificità, mentre quello della PET risente della scarsa disponibilità di questa metodica. Più interessanti e diffuse paiono le metodiche nucleari con traccianti sia di flusso ($^{201}$Tl, rubidio, MIBI) che metabolici (fluoro desossiglicoso, acidi grassi marcati con carbonio o iodio). Dai primi tentativi indiretti di identificazione del miocardio vitale con radioisotopi (identificazione, in corrispondenza di una zona miocardica acinetica ed ipoperfusa angiograficamente, di un difetto di captazione reversibile) attualmente si ricorre a metodi diretti i quali, utilizzando la lettura tardiva (24 h) con traccianti di flusso o sfruttando traccianti metabolici, permettono la dimostrazione di una residua attività metabolica cellulare nel distretto interessato.

I concetti descritti hanno permesso di comprendere come nel danno cellulare secondario all'ischemia svolgano un ruolo fondamentale anche elementi non direttamente legati all'evento acuto, come i radicali liberi di ossigeno, i quali, ad es., hanno portato allo sviluppo di tentativi terapeutici preventivi con farmaci antiossidanti (allopurinolo, desferrossamina, N-2 mercaptopropionilglicina e superossido-dismutasi).

Parallelamente le osservazioni sperimentali relative all'effetto negativo del sovraccarico intracellulare di calcio hanno fatto ipotizzare un ruolo terapeutico e preventivo per i calcioantagonisti. Recenti studi hanno infatti dimostrato come la presomministrazione di calcioantagonisti sia in grado di prevenire gli effetti dello *stunning*. Allo stato attuale questi preparati rivestono solamente il ruolo di prospettive terapeutiche.

Il miocardio ibernato non pare ancora un fenomeno correggibile con preparati farmacologici, mentre l'approccio terapeutico più consolidato è rappresentato dalle procedure di rivascolarizzazione meccanica (angioplastica coronarica, *bypass* aortocoronarico).

In conclusione, oggi l'esistenza e l'importanza dello *stunned* e dell'*hibernating myocardium* in molte condizioni cliniche sono fuori discussione e le implicazioni che ne derivano sono molteplici. Infatti, nell'infarto miocardico trattato efficacemente dalla trombolisi, la presenza di una quota di miocardio ancora vitale, ma «intontito», può permettere un parziale ma progressivo recupero a distanza della funzione contrattile.

Ogni conclusione prognostica basata esclusivamente sulla funzione ventricolare in tale fase deve quindi tener conto di questo. Allo stesso tempo divengono giustificati tutti i tentativi di associare alle procedure trombolitiche e di rivascolarizzazione interventi farmacologici finalizzati a limitare il fenomeno dello *stunning* e del danno da riperfusione. Allo stesso tempo nei pazienti con severa coronaropatia e ridotta funzione ventricolare, la decisione di procedere o meno alla rivascolarizzazione meccanica deve tener conto della quota di miocardio ibernato presente e quindi della possibilità che la disfunzione sia parzialmente reversibile. Divengono quindi raccomandabili gli studi diagnostici volti ad individuare la quota di miocardio vitale e di conseguenza può essere giustificato sottoporre alla chirurgia pazienti con funzione ventricolare depressa.

È chiaro che l'identificazione dei fenomeni descritti contribuisce a rendere ancora più problematica la definizione di ischemia. Le difficoltà esistono sia nel definire i confini tra ischemia ed infarto che nell'accettare un concetto di



Digitized by Google

ischemia cronica o di disfunzione miocardica settoriale prolungata, ma reversibile.

**Bibliografia**

Bashour T. T., *Am. Heart J.*, 1986, **112**, 427.
Bolli R., *Circulation*, 1990, **82**, 723.
Braunwald E., Kloner R. A., *Circulation*, 1982, **66**, 1146.
Kloner R. A., Przyklenk K., *Annu. Rev. Medicine*, 1991, **42**, 1-8.
Marban E., *Circulation*, 1991, **83**, 688.
Opie L. H., *Int. J. Cardiol.*, 1989, **23**, 159.
Rahimtoola S. H., *Am. Heart J.*, 1989, **117**, 211.

DANIELE BRACCHETTI E GIANNI CASELLA

## MIOCARDIOPATIE [v. vol. IX, col. 1646]

SOMMARIO



### INTRODUZIONE E CLASSIFICAZIONE

Le definizioni ed i criteri classificativi proposti dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) all'inizio degli anni '80 (World Health Organization, 1980; 1984) hanno retto complessivamente alla prova del tempo e sono attualmente accettati dalla maggior parte della comunità scientifica internazionale (Abelmann, 1989).

Secondo tali linee guida il termine *cardiomiopatia* è sinonimo di *malattia miocardica ad etiologia sconosciuta*, mentre le situazioni di *danno miocardico secondario ad una causa ben identificabile* (ad es. miocarditi) oppure *nell'ambito di una malattia sistemica* (ad es. amiloidosi, emocromatosi, sarcoidosi) vengono definite come *malattie specifiche del miocardio*.

Le cardiomiopatie vengono ulteriormente suddivise in tre gruppi sulla base di criteri contemporaneamente morfologici e funzionali:

— *cardiomiopatia dilatativa*;
— *cardiomiopatia ipertrofica*;
— *cardiomiopatia restrittiva*.

Si tratta di forme profondamente diverse fra di loro sotto il profilo clinico, fisiopatologico nonché di storia naturale, il cui raggruppamento classificativo è giustificato unicamente dalla mancanza di un'etiologia conosciuta. Nell'arco degli ultimi anni è emersa l'esigenza di una revisione o comunque di un aggiornamento nosografico dell'argomento, soprattutto in relazione al riconoscimento di due «nuove» entità cliniche, la *cardiomiopatia restrittiva idiopatica* e la *displasia aritmogena del ventricolo destro* che verranno analizzate nelle colonne successive.

### MIOCARDIOPATIA O CARDIOMIOPATIA DILATATIVA

#### Etiopatogenesi

La causa o le cause della cardiomiopatia dilatativa rimangono, allo stato attuale, ampiamente sconosciute.

*Ipotesi infettivo-immunologica.* – Il modello etiopatogenetico che viene oggi maggiormente accreditato è comunque quello che fa riferimento all'ipotesi infettivo-immunologica. In altri termini, la cardiomiopatia dilatativa rappresenterebbe la conseguenza finale di una precedente infezione virale, eventualmente favorita o comunque «modulata» da anormali meccanismi immunologici. Numerose osservazioni cliniche e sperimentali sono state prodotte a favore di tale ipotesi (O'Connell, 1983):

a) una miocardite acuta ad evoluzione verso quadri anatomopatologici di cardiomiopatia dilatativa si sviluppa nel topo infettato con virus EMC, *herpes simplex* e, con particolare frequenza, coxsackie B3 e B4;

b) in un sottogruppo di pazienti che hanno superato, clinicamente, un episodio di miocardite acuta virale è possibile documentare a distanza un quadro clinico-ecocardiografico di cardiomiopatia dilatativa. Analizzando cumulativamente le principali casistiche, tale evoluzione è presente in almeno 50 su 400 casi pubblicati (12,5%) (O'Connell, 1987);

c) la diffusione della biopsia endomiocardica ha permesso di rilevare segni istologici di miocardite in un definito sottogruppo di pazienti con diagnosi di «cardiomiopatia dilatativa». Limitandosi ad analizzare le casistiche con diagnosi di miocardite basata su criteri rigorosi, la prevalenza del fenomeno è dell'ordine del 10-20%, con valori più elevati nei casi con scompenso cardiaco insorto da meno di un anno (O'Connell, 1987);

d) con tecniche di «ibridizzazione degli acidi nucleici» è possibile rilevare la presenza di RNA virale (enterovirus) in una percentuale relativamente elevata (32-42%) di soggetti con cardiomiopatia dilatativa (Tracy, 1990);

e) molti pazienti con infezione da HIV, che rappresenta un «modello clinico» di infezione virale (e non) in un contesto di immunodepressione, sviluppano segni clinici e/o anatomopatologici di miocardite e «cardiomiopatia dilatativa» (Rapezzi *et al.*, 1989);

f) è possibile evidenziare difetti di regolazione immunologica in molti pazienti con cardiomiopatia dilatativa: deficit di attività delle cellule *natural killer* (NK), depressa funzionalità di tipo soppressivo delle cellule T, esaltata funzionalità dei linfociti T ad azione citotossica, aumento del titolo sierico di anticorpi antifibrillari, antimiolemmali, antisarcolemmali ed anti recettore beta-adrenergico (O'Connell *et al.*, 1983).

*Fattori genetici.* – Una anamnesi familiare positiva per la cardiomiopatia dilatativa è rilevabile retrospettivamente nel 6% dei casi (Michels *et al.*, 1985). Berko e Swift (1987) hanno identificato casi di eredità legata al cromosoma X.

#### Fisiopatologia

La cardiomiopatia dilatativa è la condizione più tipica del deficit di funzione ventricolare, soprattutto sinistra, dovuto a riduzione diffusa dell'inotropismo cardiaco. L'entità della riduzione della funzione contrattile dipende ovviamente dal grado di compromissione anatomica e dalla fase della storia naturale della malattia.

Già in una fase iniziale è possibile comunque riscontrare una riduzione di tutti gli indici di funzione sistolica ventricolare. La depressione della funzione contrattile comporta una progressiva dilatazione ventricolare (aumento del volume telediastolico). Ciò assicura inizialmente il manteni-



Digitized by Google

mento della gittata sistolica, anche se la frazione d'eiezione parallelamente si riduce. In accordo con la legge di Laplace, la tensione parietale aumenta. È cruciale, a questo punto, il grado di ipertrofia ventricolare che si instaura: un adeguato aumento dello spessore parietale tende infatti a normalizzare lo stress parietale, mentre in presenza di una ipertrofia inadeguata lo stress di parete permane elevato.

Poiché lo stress parietale sistolico rappresenta il vero *postcarico ventricolare* e poiché, come è noto, esiste una relazione inversa fra carico ed accorciamento delle fibrocellule miocardiche, l'aumento del postcarico contribuisce a deprimere ulteriormente la funzione di pompa del ventricolo sinistro.

Si rende necessario fare ricorso già in condizioni di base al meccanismo di Frank-Starling, cioè alla *riserva di precarico*. Il rapido esaurimento di quest'ultima conduce ad una situazione di *discordanza del postcarico* con gittata sistolica fissa, dipendente unicamente dalle variazioni di postcarico.

Complessivamente, quindi, il profilo emodinamico del paziente con cardiomiopatia dilatativa prevede valori elevati di postcarico e precarico, ridotta contrattilità, aumento dei volumi ventricolari e ridotto rapporto massa/volume.

Il deficit contrattile del ventricolo sinistro, pur rappresentando l'elemento «centrale», non esaurisce di per sé il quadro fisiopatologico della cardiomiopatia dilatativa. Anche la *funzione ventricolare destra* è in realtà compromessa *ab initio* in un sottogruppo di casi (Binetti *et al.*, 1986; Baker *et al.*, 1984; Rapezzi *et al.*, 1987).

Le conoscenze sulla fisiopatologia della malattia si sono inoltre recentemente arricchite attraverso una migliore comprensione della *fisiologia del recettore beta-adrenergico* ed in particolare del modello della *down regulation beta-recettoriale* (Lefkowitz *et al.*, 1984).

Il complesso recettoriale risulta costituito da 3 principali componenti (Bristow *et al.*, 1989; Denniss *et al.*, 1989): 1) il recettore vero e proprio, che è una struttura della membrana cellulare; 2) l'adenilciclasi, ossia l'enzima che, attivato dalla stimolazione recettoriale, converte l'ATP in AMP ciclico; 3) una proteina regolatrice (G) localizzata a livello della membrana cellulare con funzioni di trasduzione del segnale dal recettore vero e proprio al sistema dell'adenilciclasi.

In presenza di una elevata concentrazione di catecolamine (evenienza pressoché costante in corso di scompenso cardiaco) si verificano profondi rimaneggiamenti del sistema recettoriale ed in particolare una riduzione di efficacia nell'accoppiamento con l'adenilciclasi.

L'esposizione all'agonista (catecolamine) determina un processo di fosforilazione da parte di una chinasi specifica del recettore. A sua volta, la fosforilazione determinerebbe il sequestro del recettore all'interno della membrana, dove diverrebbe non più disponibile per l'agonista. Il destino successivo può prevedere: 1) defosforilazione da parte di una specifica fosfatasi con conseguente ritorno alla posizione iniziale e nuova disponibilità per l'agonista; 2) ulteriore progressione del recettore all'interno del citoplasma cellulare.

Tale ultimo processo è denominato *down regulation* recettoriale e può essere documentato dalla riduzione di densità dei recettori sulla superficie cellulare, mediante traccianti radioisotopici. Se l'esposizione all'agonista continua si può verificare un danno strutturale e quindi una degradazione del recettore. In caso contrario, oppure in risposta alla somministrazione di betabloccanti, si verifica il fenomeno opposto di «esteriorizzazione» del recettore dal citoplasma alla membrana (*up regulation*).

Tali osservazioni sperimentali hanno rappresentato una delle basi razionali per l'impiego clinico (apparentemente paradossale) dei betabloccanti in corso di scompenso cardiaco cronico da cardiomiopatia dilatativa (v. sotto), anche se le esatte indicazioni ed i reali vantaggi di tale trattamento rimangono da stabilire (Waagstein *et al.*, 1989).

**Ecocardiografia**

Nella pratica clinica l'ecocardiografia (v.*, 2343-2344) è in grado non solo di porre diagnosi di cardiomiopatia dilatativa con ragionevole certezza ma anche di precisare i dettagli morfofunzionali e la fase della storia naturale in cui si trova la malattia nel singolo caso. In effetti la diffusione dell'ecocardiografia come indagine quasi routinaria nella valutazione del paziente con sospetta cardiopatia ha consentito, in molti soggetti, di porre diagnosi di cardiomiopatia in una fase preclinica. Peraltro occorre ribadire che una corretta diagnosi finale di cardiomiopatia dilatativa presuppone l'esclusione di una serie di malattie specifiche del miocardio o comunque di cardiopatie, riportate in tab. I, il cui quadro ecocardiografico può essere talora indistinguibile rispetto a quello della forma di cardiomiopatia dilatativa idiopatica.

Va sottolineato come l'ecocardiografia bidimensionale consenta di ottenere informazioni molto significative in tutte le tre forme principali di cardiomiopatia (tab. II) (v. anche: ECOCARDIOGRAFIA*, coll. 2343-2344). Queste indagini vanno integrate con l'impiego dell'eco-Doppler e del *color*-Doppler (v. ECOCARDIOGRAFIA*, *ecocardiografia Doppler*).

Per gli altri esami strumentali si rinvia alla voce MIOCARDIOPATIE (IX, 1651-1658).

**Cenni di terapia**

La terapia medica della cardiomiopatia dilatativa si identifica con quella dello scompenso cardiaco, alla cui trattazione si rimanda. Il cardine della terapia nei pazienti sintomatici è comunque costituito dagli ACE-inibitori, in associazione ai diuretici ed eventualmente alla digitale. Nei casi con severa dilatazione e ipocinesia ventricolare è indicata la terapia ipocoagulante orale con dicumarolici.

In casi selezionati può essere preso in considerazione il trattamento con betabloccanti. Il metoprololo (a bassi dosaggi iniziali e con incrementi posologici estremamente graduali) è il farmaco più usato in tal senso. L'argomento rimane comunque oggetto di dibattito e le reali indicazioni alla terapia betabloccante non sono tuttora codificate.

V. anche: MIOCARDIOPATIE (IX, 1662-1669).

Molta attenzione deve essere rivolta alla profilassi della morte improvvisa (v.; v*.).

**TAB. I. PRINCIPALI MALATTIE SPECIFICHE DEL MIOCARDIO CON QUADRO ECOCARDIOGRAFICO A TIPO CARDIOMIOPATIA DILATATIVA**

| | |
|---|---|
| Miocarditi | Cardiopatia uremica |
| Distrofia muscolare di Duchenne | Cardiopatia diabetica |
| Sclerodermia | Acromegalia |
| Amiloidosi | Ipofosfatemia/ipocalcemia |
| Sarcoidosi | Malattia di Fabry |
| Emocromatosi | Malattia di Gaucher |
| Glicogenosi | Feocromocitoma |
| Deficit di carnitina o palmitil-carnitin-transferasi | Tossicità da antracicline |
| «Cardiomiopatia» alcolica | Deficit di selenio e di tiamina |

Alcune delle condizioni elencate possono in realtà presentare, in una certa fase della storia naturale della malattia, quadri a tipo cardiomiopatia restrittiva (cfr. tab. III).

TAB. II. CARATTERISTICHE ECOCARDIOGRAFICHE BIDIMENSIONALI DELLE CARDIOMIOPATIE
(da Missri, 1991)

| Caratteristiche ecocardiografiche | Dilatativa | Ipertrofica | Restrittiva |
|---|---|---|---|
| Dimensioni telediastoliche del VS | Aumentate | Ridotte | Normali/ridotte |
| Rapporto spessore parietale/raggio del VS | Normale/ridotto | Marcatamente aumentato | Aumentato |
| Funzione sistolica del VS | Marcatamente ridotta | Aumentata | Normale/ridotta |
| Dimensioni dell'AS in relazione alle dimensioni del VS | Aumentate proporzionalmente alle dimensioni del VS | Aumentate non proporzionalmente alle dimensioni del VS | Marcatamente aumentate non proporzionalmente alle dimensioni del VS |
| Tratto di efflusso del VS | Di dimensioni aumentate | Di dimensioni diminuite | Normale |
| Tratto di afflusso del VS | Normale | Di dimensioni diminuite | Di dimensioni diminuite |

Nei casi con scompenso severo e previsione di prognosi infausta a 6-12 mesi, il trapianto cardiaco ortotopico rappresenta l'unica soluzione ragionevole proponibile al paziente. Allo stato attuale la sopravvivenza del paziente trapiantato è dell'ordine dell'80-90% e del 70-75% rispettivamente a uno e a cinque anni dall'intervento (Kriett e Korie, 1990) (v. anche: CARDIOCHIRURGIA*).

**Bibliografia**


Abelmann W. H., *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1989, **13**, 1219.
Baker B. J. *et al.*, *Am. J. Cardiol.*, 1984, **54**, 596.
Berko B. A., Swift M., *N. Engl. J. Med.*, 1987, **316**, 1186.
Binetti G. *et al.*, *Cardiologia*, 1986, **31**, 1027.
Bristow M. R. *et al.*, *Eur. Heart J.*, 1989, **10** (Suppl. B), 45.
Cohn J. N. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1991, **325**, 303.
Dec J. W. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1985, **312**, 885.
Denniss A. R. *et al.*, *J. Mal. Cell. Cardiol.*, 1989, **21**, 651.
DiBianco R. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1989, **320**, 677.
Goodwin J. F., *Drugs*, 1989, **38**, 988-999.
Kriett J. M., Korie M. P., *J. Heart Transpl.*, 1990, **9**, 323.
Lefkowitz R. J. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1984, **310**, 1570.
Mancini D. L. *et al.*, *Circulation*, 1991, **83**, 778.
Michels V. V. *et al.*, *Am. J. Cardiol.*, 1985, **55**, 1232.
Missri J., *Ecocardiografia Doppler: applicazioni cliniche*, 1991, McGraw-Hill, Milano.
O'Connell J. B. *et al.*, *Modes of detection of inflammation in the cardiomyopathic heart*, in Robinson J. A., O'Connell J. B., *Myocarditis: Precursor of Cardiomyopathy*, 1983, Health & Co., Lexington.
O'Connell J. B., *Texas Heart Inst. J.*, 1987, **14**, 268.
Rapezzi C. *et al.*, *Atti del Convegno Nazionale: La cardiomiopatia dilatativa*, 1987, Napoli, pp. 71-85.
Rapezzi C. *et al.*, *Cardiologia*, 1989, **43**, 823.
Smith T. W. *et al.*, *The management of heart failure*, in Braunwald E. ed., *Heart Diseases*, 1988, Saunders, Philadelphia, pp. 485-543.
The Consensus Trial Study Group, *N. Engl. J. Med.*, 1987, **316**, 1429.
The SOLVD Investigators, *N. Engl. J. Med.*, 1991, **325**, 293-302.
Waagstein F. *et al.*, *Circulation*, 1989, **80**, 551.
World Health Organization, *Br. Heart J.*, 1980, **44**, 672.
World Health Organization, *WHO Tech. Rep.*, 1984, Ser. 697, 7-68.
Wynne J., Braunwald E., *The Cardiomyopathies and Myocarditides*, in Braunwald D. ed., *Heart Disease*, 1988, Saunders, Philadelphia, pp. 1410-1469.


BRUNO MAGNANI E CLAUDIO RAPEZZI

## MIOCARDIOPATIA O CARDIOMIOPATIA IPERTROFICA

### Introduzione e anatomia patologica

L'elemento caratterizzante la malattia è la presenza di ipertrofia parietale del ventricolo sinistro, non secondaria ad alcun sovraccarico emodinamico. Nei casi più tipici il fenomeno è particolarmente spiccato, talora con aspetti addirittura «mostruosi». In alcuni casi l'entità dell'ipertrofia è però del tutto lieve ed il processo patologico localizzato ad un unico segmento miocardico.

In generale l'interessamento è prevalente a livello del *setto interventricolare*. Tale localizzazione asimmetrica dell'ipertrofia, con rapporto fra gli spessori del setto e della parete libera uguale o superiore a 1,3, è stato per qualche tempo considerato elemento patognomonico della malattia. In realtà le eccezioni si sono rivelate numerose, limitando sia la sensibilità che la specificità di tale reperto nella identificazione dei pazienti affetti.

L'ecocardiogramma bidimensionale ha notevolmente contribuito a definire la localizzazione dell'ipertrofia nel contesto delle pareti ventricolari e ha chiarito come l'interessamento preferenziale del setto sia solo una delle possibili varianti. La distribuzione è variabile in riferimento sia ad una sezione trasversale del ventricolo sia ad una longitudinale lungo l'asse base-apice.

Considerando la sezione trasversale del ventricolo sinistro, Maron *et al.* (1981) identificano *4 tipi di distribuzione*: *I*) ipertrofia localizzata alla porzione anterobasale del setto interventricolare senza coinvolgimento della parete posteriore e della parete libera; *II*) ipertrofia dell'intero setto interventricolare (porzioni anterobasali e posteriori) senza coinvolgimento della parete libera; *III*) ipertrofia del setto e della parete libera (la parete posteriore è la regione meno coinvolta); *IV*) localizzazione atipica della ipertrofia che interessa regioni diverse dalla porzione anterobasale del setto (ad es. il setto posteriore e/o la parete anterolaterale).

Facendo riferimento alla sezione longitudinale baseapice del ventricolo sinistro l'ipertrofia può localizzarsi alla porzione subaortica del setto (situazione «classica»), al segmento medio ventricolare (*ostruzione medio-ventricolare*) oppure alla porzione apicale (*cardiomiopatia ipertrofica apicale*).

Anche la parete libera del ventricolo destro può essere interessata dall'ipertrofia.

L'aspetto istopatologico più caratteristico delle varie forme di cardiomiopatia ipertrofica è la totale disorganizzazione della struttura miocardica (a carico quasi esclusivamente del ventricolo sinistro e del setto): *disarray* delle fibrocellule con aspetti a spirale e spiccata ipertrofia cellulare.

### Familiarità e fattori genetici

L'*incidenza familiare* della cardiomiopatia ipertrofica rappresenta uno degli aspetti noti da più tempo. Un classico studio ecocardiografico relativo a 70 famiglie con almeno un caso indice ha documentato una base genetica nel 55% (Maron *et al.*, 1984). La modalità di trasmissione risulta di tipo autosomico dominante, a penetranza variabile.

Del tutto recentemente i tentativi di identificare il *locus* o i *loci* genetici responsabili della malattia hanno dato risultati concreti. L'alterazione genetica responsabile della malattia è stata identificata in un *locus* del cromosoma 14 ed in particolare all'interno del sistema genetico che codifica le catene pesanti della miosina (Jarcho *et al.*, 1989; Solomon



Digitized by Google

*et al.*, 1990; Tenigawa *et al.*, 1990; Geisterfer-Lowrance *et al.*, 1990). Rosenzweig *et al.* (1991), mediante l'impiego della *polymerase chain reaction* (v. PCR*) sui linfociti, sono riusciti a realizzare la diagnosi preclinica della *Familial Hypertrophic Cardiomyopathy*. V. anche: MUSCOLO*.

**Fisiopatologia**

La maggior parte degli studi recenti sui *meccanismi fisiopatologici* operanti nella cardiomiopatia ipertrofica si sono concentrati su tre aspetti principali: il gradiente pressorio all'efflusso ventricolare sinistro, l'ischemia miocardica, la disfunzione diastolica (Maron *et al.*, 1987a; 1987b; 1987c).

Attorno al significato fisiopatologico e clinico da attribuire al *gradiente pressorio* si è sviluppato, nel corso degli ultimi dieci anni, un acceso dibattito, non privo di ripercussioni terapeutiche, che ha visto a confronto due differenti concezioni del fenomeno. La ipotesi «non ostruttiva» considera il gradiente pressorio una conseguenza della completa obliterazione della cavità ventricolare sinistra «di per sé». Il completo e rapido svuotamento del ventricolo verrebbe in ultima analisi a provocare una contrazione di tipo isometrico attorno al catetere.

La ipotesi «ostruttiva» sostiene la reale esistenza di un impedimento meccanico all'eiezione ventricolare, determinato dallo spostamento sistolico della mitrale verso il setto.

Allo stato attuale del dibattito e delle informazioni disponibili è ragionevole ritenere che nelle forme di cardiomiopatia ipertrofica con gradiente sistolico esista realmente una ostruzione all'efflusso ventricolare sinistro, responsabile dell'impedimento meccanico all'eiezione di una certa quota della gittata sistolica. L'entità di tale quota è peraltro estremamente variabile da paziente a paziente e modificabile attraverso l'impiego di farmaci o di manovre fisiche.

In rari casi la base morfologica del gradiente è rappresentata da un restringimento anatomico della cavità a livello medioventricolare.

La presenza e l'entità del gradiente sono facilmente rilevabili in via non invasiva dall'eco-Doppler.

La identificazione di una *componente ischemica* miocardica nella fisiopatologia della cardiomiopatia ipertrofica è un dato recente ma sufficientemente documentato. D'altra parte numerosi sono i meccanismi potenzialmente ischemizzanti: *a*) patologia delle arteriole intramurali; *b*) alterata estrazione miocardica dell'ossigeno; *c*) ridotta densità dei capillari in rapporto alla massa miocardica; *d*) inadeguata riserva di vasodilatazione coronarica (Maron, 1987a).

L'ischemia miocardica può contribuire alla genesi di molti dei sintomi del paziente con cardiomiopatia ipertrofica; meccanismi ischemici sono inoltre implicati nei casi con evoluzione dilatativa-ipocinetica, la cui prevalenza è dell'ordine del 5-10% nelle principali casistiche. La *cardiomiopatia ipertrofica ad evoluzione dilatativa*, caratterizzata appunto da sviluppo di dilatazione e ipocinesia del ventricolo sinistro, ha una prognosi particolarmente sfavorevole, tanto da rendere talora indicato il trapianto cardiaco (Rapezzi *et al.*, 1989).

Le aumentate conoscenze sui complessi meccanismi che costituiscono la fisiologia della funzione diastolica hanno contribuito ad estendere, negli ultimi anni, la comprensione della fisiopatologia della diastole anche nella cardiomiopatia ipertrofica. È attualmente evidente che l'*alterata funzione diastolica* rappresenta la singola alterazione fisiopatologica più frequente, riscontrabile indifferentemente nei casi con o senza componente ostruttiva.

Risultano frequentemente alterati sia il *rilasciamento miocardico attivo* sia le *proprietà elastiche passive* (*compliance* e rigidità) del ventricolo.

Recentemente l'*eco-Doppler* ha offerto la possibilità di studiare le modalità del riempimento ventricolare (e quindi di dedurre, seppure molto grossolanamente, le proprietà diastoliehe) in un elevato numero di pazienti. Dallo studio più vasto sino ad ora disponibile emerge un profilo funzionale caratterizzato da: prolungamento del rilasciamento isovolumetrico, riduzione della velocità di riempimento ventricolare rapido, aumento (compensatorio) della velocità del riempimento atriale. Nello studio citato, inoltre, l'entità delle alterazioni è maggiore nei pazienti senza, rispetto a quelli con ostruzione all'efflusso ventricolare (Maron *et al.*, 1987c).

**Storia naturale**

Considerando la popolazione generale dei pazienti con cardiomiopatia ipertrofica sono identificabili almeno *due profili di storia naturale*:

— un decorso stabile senza sintomi rilevanti ma con un rischio costante di morte improvvisa (attorno al 2-4% anni/paziente);

— un deterioramento lento e graduale verso gradi variabili di scompenso cardiaco.

A sua volta il substrato fisiopatologico dello scompenso può essere duplice: *a*) progressivo peggioramento della disfunzione diastolica ventricolare (eventualmente esacerbato dalla comparsa di fibrillazione atriale); *b*) deterioramento della funzione sistolica, con quadri di ipocinesia-dilatazione del ventricolo sinistro e frequente assottigliamento delle pareti ventricolari.

Numerosi studi hanno cercato di individuare gli elementi utili ai fini prognostici e soprattutto in grado di predire l'evento più frequente e temibile rappresentato dalla morte improvvisa. I risultati più significativi sono emersi dalla valutazione sistematica dei soggetti affetti mediante registrazione dell'*elettrocardiografia dinamica*. Il rilievo Holter di tachicardia ventricolare non sostenuta si è rivelato in grado di predire, fra i soggetti adulti, la morte improvvisa con una sensibilità del 69% ed una specificità dell'80% (McKenna e Cannon, 1989).

**Terapia**

Tali osservazioni hanno rappresentato la principale base razionale per l'impiego, nei pazienti con cardiomiopatia ipertrofica e rilievo Holter di tachicardia ventricolare non sostenuta, di un potente farmaco antiaritmico quale l'amiodarone (v.*), indipendentemente dalla presenza di sintomi riferibili all'aritmia.

Va segnalato però che, al di là del ragionamento fondato sulle basi razionali, è attualmente disponibile solo un limitato numero di documentazioni della efficacia elinica del farmaco. Lo studio più significativo, proveniente dal gruppo di Hammersmith, si basa su di un gruppo di controllo unicamente di tipo «storico». A fronte di una mortalità del 7%/anno in un gruppo di pazienti con tachieardia ventricolare non sostenuta trattati con terapia convenzionale fra il 1976 e il 1977, McKenna *et al.* (1985) riportano infatti una mortalità pari a zero nel gruppo di 21 easi con tachicardia ventricolare trattati con amiodarone nel periodo 1977-1979.

La proposta del gruppo di Hammersmith di trattare «empiricamente» con amiodarone i soggetti con cardiomiopatia ipertrofica, unicamente sulla base del rilievo Holter di tachicardia ventricolare non sostenuta, non ha comunque incontrato un consenso unanime. Le principali evidenze contrarie a tale impostazione sono state prodotte nell'ambito del Centro di Bethesda. In alternativa ad una



Digitized by Google

terapia «empirica» questo gruppo sottolinea il ruolo di una eventuale terapia guidata da una valutazione elettrofisiologica seriata, allo scopo di identificare gli effetti proaritmici del farmaco ed i casi a rischio di blocco atrioventricolare totale (Fananapazir *et al.*, 1991).

A parte le considerazioni soprariportate sull'impiego dell'antiaritmico amiodarone, i farmaci più utilizzati nella cardiomiopatia ipertrofica sono i betabloccanti e i calcioantagonisti.

I betabloccanti, in particolare quelli senza attività simpaticomimetica intrinseca, sono i farmaci più utilizzati (propranololo 160-320 mg/*die*) e sono efficaci nella riduzione dei sintomi (Maron *et al.*, 1987b).

Il calcioantagonista più utilizzato in questi pazienti è il verapamile (360 mg/*die*): cautela deve essere posta nella sua utilizzazione in pazienti con insufficienza cardiaca e con alti gradi di ostruzione all'efflusso ventricolare.

Un altro farmaco che può dare risultati positivi è la disopiramide, un antiaritmico che unisce un effetto inotropo negativo all'azione antiaritmica (Pollick C. *et al.*, 1988).

Per quanto riguarda il *trattamento chirurgico delle forme ostruttive*, la mortalità operatoria riportata nelle casistiche «di riferimento» è dell'ordine del 5-8%. È rilevabile comunque una tendenza alla riduzione della mortalità considerando unicamente i risultati più recenti (2,7% per i casi operati a Bethesda dopo il 1982) (McIntosh e Maron, 1988).

L'intervento riduce efficacemente il gradiente all'efflusso ventricolare e la eventuale associata insufficienza mitralica. La classe funzionale del paziente e la capacità ergometrica migliorano inoltre in modo significativo. Non esistono comunque studi che dimostrino un miglioramento della sopravvivenza, in particolare una riduzione del rischio di morte improvvisa, rispetto ad un gruppo di controllo. In considerazione di ciò e della mortalità connessa alle varie procedure esiste allo stato attuale un ampio consenso nel circoscrivere l'indicazione chirurgica ai pazienti con ostruzione all'efflusso ventricolare sinistro di grado severo in condizioni basali, che rimangono sintomatici nonostante una terapia medica appropriata.

**Bibliografia**


Branzi A. *et al.*, *Int. J. Cardiol.*, 1985, **7**, 129.
Braunwald E., *N. Engl. J. Med.*, 1989, **320**, 800.
Fananapazir L., Epstein S. E., *Am. J. Cardiol.*, 1991, **67**, 175.
Geisterfer-Lowrance A. A. T. *et al.*, *Cell*, 1990, **62**, 999.
Hopf R. Kaltenbach M., *Management of Hypertrophic Cardiomyopathy*, in *Annual Review of Medicine*, 1991, **42**, 75-83.
Jarcho J. A. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1989, **321**, 1372.
Maron B. J., Gottdiener J. S., Epstein S. E., *Am. J. Cardiol.*, 1981, **48**, 418.
Maron B. J. *et al.*, *Am. J. Cardiol.*, 1984, **53**, 1087.
Maron B. J., Bonow R. O., Cannon R. O. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1987a, **316**, 780.
Maron B. J., Bonow R. O., Cannon R. O. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1987b, **316**, 844.
Maron B. J. *et al.*, *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1987c, **10**, 733.
McIntosch C. L., Maron B. J., *Circulation*, 1988, **78**, 487.
McIntosch C. L., Maron B. J., *Circulation*, 1988, **78**, 587.
McKenna W. J. *et al.*, *Br. Heart J.*, 1985, **53**, 412.
McKenna W. J., *Hypertrophic Cardiomyopathy*, in Julian D. G. *et al.*, *Diseases of the Heart*, 1989, Baillière Tindall, London.
McKenna W. J., Cannon A. J., *Circulation*, 1989, **80**, 1489.
Pollick C. *et al.*, *Am. J. Cardiol.*, 1988, **62**, 1252.
Rapezzi C. *et al.*, *Atti del Congresso: New Trends in Cardiomyopathy*, 1989, Firenze, p. 69.
Rosenzweig A. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1991, **325**, 1753.
Sasson Z. *et al.*, *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1988, **11**, 752.
Solomon S. D. *et al.*, *Am J. Hum. Genet.*, 1990, **47**, 389.
Tanigawa G. *et al.*, *Cell*, 1990, **62**, 991.
Wagner J. A. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1989, **320**, 755.
Wigle E. D. *et al.*, *Circulation*, 1987, **75**, 311.


BRUNO MAGNANI E CLAUDIO RAPEZZI

## MIOCARDIOPATIA O CARDIOMIOPATIA RESTRITTIVA

**Premessa e classificazione**

Dei tre gruppi di cardiomiopatie, le forme restrittive sono le più rare nelle nostre aree geografiche e nel mondo occidentale in genere. La prevalenza è invece massima nelle regioni tropicali e subtropicali.

Secondo la classificazione dell'OMS, il termine cardiomiopatia restrittiva è applicabile a due entità cliniche: l'*endocardite eosinofila di Loeffler* e l'*endomiocardiofibrosi*. Esiste poi un vasto gruppo di malattie specifiche del miocardio con fisiopatologia restrittiva, elencate in tab. III. Occorre tenere presente che, in molti casi (ad es. amiloidosi, sarcoidosi ed emocromatosi), la presentazione a tipo cardiomiopatia restrittiva è solo uno dei possibili quadri clinici di una malattia che, a livello cardiaco, può manifestarsi indifferentemente come «cardiomiopatia dilatativa» o cardiopatia ischemica o come aritmia ipo- o ipercinetica.

A differenza della cardiomiopatia dilatativa e di quella ipertrofica, in cui un accurato esame clinico e, soprattutto, ecocardiografico è in grado di stabilire una diagnosi pressoché certa, la diagnosi di cardiomiopatia restrittiva presuppone una valutazione emodinamica. La coesistenza dei seguenti elementi risulta indicativa di fisiopatologia restrittiva (Lorell e Grossman, 1986):

— aumento delle pressioni telediastoliche ventricolari;
— morfologia a *dip-plateau* della fase diastolica delle curve di pressione ventricolari (v. sotto fig. 2, *a sinistra*);
— deflessione *y* prominente nei tracciati di pressione atriale;
— volume telediastolico biventricolare normale o solo lievemente aumentato.

Recentemente è emersa però la possibilità di diagnosticare o comunque di sospettare in via non invasiva l'esistenza di una fisiopatologia restrittiva in presenza di tipiche alterazioni del profilo di flusso transmitralico e transtricuspidale all'eco-Doppler (Appleton *et al.*, 1988).

Nell'arco degli ultimi anni la nosografia e l'inquadramento clinico delle cardiomiopatie restrittive hanno rice-

**TAB. III. PRINCIPALI MALATTIE MIOCARDICHE CON FISIOPATOLOGIA RESTRITTIVA**
(Modificata da Child e Perloff, 1988)

| |
|---|
| FORME CON INTERESSAMENTO MIOCARDICO |
| **A) Non infiltrative** |
| Cardiomiopatia restrittiva idiopatica |
| Sclerodermia |
| Rigetto cronico |
| **B) Infiltrative** |
| Amiloidosi |
| Sarcoidosi |
| Malattia di Gaucher |
| Malattia di Hurler |
| **C) Da accumulo** |
| Emocromatosi |
| Malattia di Fabry |
| Glicogenosi |
| FORME CON INTERESSAMENTO ENDOMIOCARDICO |
| Endomiocardiofibrosi |
| Endocardite eosinofila di Löffler |
| Sindrome da carcinoide |
| Cardiopatia post-attinica |
| Tossicità da antracicline |





Digitized by Google

vuto due importanti contributi: la identificazione della *cardiomiopatia restrittiva* cosiddetta *idiopatica* e la formazione di un ampio consenso nel ritenere l'*endomiocardiofibrosi* e l'*endocardite di Loeffler* differenti espressioni cliniche di un'unica malattia con un unico meccanismo etiopatogenetico: l'azione irritativa sull'endomiocardio ventricolare da parte di sostanze liberate dagli eosinofili.

**Cardiomiopatia restrittiva idiopatica**

Il termine *cardiomiopatia restrittiva idiopatica* è stato usato in letteratura a partire dalla prima metà degli anni '80 per indicare casi di malattia del miocardio a fisiologia restrittiva caratterizzati da (Siegel *et al.*, 1984):

— assenza di una precisa etiologia;
— assenza di lesioni istologiche caratteristiche;
— assenza di patologia dell'endocardio.

Sono evidenti le differenze rispetto all'endomiocardiofibrosi e al Loeffler che configurano tipiche malattie dell'endomiocardio. A tale aspetto si aggiunge il dato della costante assenza di patologia degli eosinofili in tutti i casi riportati.

La cardiomiopatia restrittiva idiopatica rappresenta verosimilmente la malattia miocardica a fisiologia restrittiva più frequente nei Paesi occidentali (Child e Perloff, 1988).

Il quadro clinico e strumentale è sufficientemente tipico (Child e Perloff, 1988; Ortolani *et al.*, 1989). È evidente innanzitutto che la diagnosi è una diagnosi di esclusione che necessita della biopsia miocardica (o del reperto autoptico). Il quadro istologico è costituito dalla coesistenza di rilievi di per sé aspecifici quali fibrosi e ipertrofia cellulare (fig. 1).

Fig. 1. Istologia miocardica relativa ad una paziente di 60 anni affetta da cardiomiopatia restrittiva idiopatica. Zone di marcata fibrosi interstiziale separano fibrocellule miocardiche ipertrofiche. Colorazione tricromica di Masson (72 ×).

Il *quadro clinico* è caratterizzato dallo scompenso cardiaco. Anche se in singoli casi la progressione della malattia è piuttosto lenta, la tendenza generale è verso lo scompenso cardiaco congestizio severo. La storia naturale della malattia vede inoltre in primo piano le aritmie: fibrillazione atriale e spiccata evolutività verso il blocco atrioventricolare totale.

All'*elettrocardiografia* standard non è identificabile un quadro specifico della malattia. Accanto a casi con bassi voltaggi del QRS nelle derivazioni periferiche esistono pazienti con ipertrofia destra o biventricolare, ritardi di conduzione intraventricolare, aspetti a tipo necrosi, alterazioni della ripolarizzazione con prolungamento dell'intervallo Q-T.

All'*ecocardiogramma* l'aspetto più tipico è rappresentato dalla dilatazione biatriale a fronte di normali volumi ventricolari (fig. 2, *a destra*). Sono comunque tutt'altro che rari i casi con aumentato spessore parietale dei ventricoli e con versamento pericardico.

La prognosi della malattia è complessivamente infausta. La severità e la netta evolutività dello scompenso cardiaco nonché il ruolo unicamente «sintomatico» della terapia medica giustificano l'indicazione al trapianto cardiaco.

La diagnosi di cardiomiopatia restrittiva idiopatica presuppone un alto grado di sospetto. La consapevolezza che un paziente con scompenso cardiaco può essere affetto da cardiomiopatia restrittiva anche in assenza di malattie tropicali o di ipereosinofilia o comunque di malattie sistemiche rare, è una condizione indispensabile per tale sospetto preliminare.

Nella pratica clinica l'identificazione all'ecocardiogramma, in un paziente con scompenso cardiaco «non spiegato», di dilatazione biatriale a fronte di normali volumi biventricolari ed in assenza di patologia valvolare è in genere l'elemento che avvia l'*iter* diagnostico.

Delicati problemi di diagnosi differenziale si possono porre nei confronti della pericardite cronica costrittiva e, talora, della cardiomiopatia ipertrofica e dilatativa.

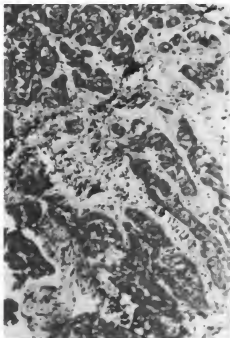
**Altre forme con interessamento miocardico**

Tra le cardiomiopatie restrittive con il solo interessamento miocardico ricordiamo le forme infiltrative costituite dalla sarcoidosi e dall'amiloidosi.

Nella sarcoidosi (v.) sistemica il coinvolgimento cardiaco è documentabile anatomopatologicamente nel 13-37% dei casi (Silverman *et al.*, 1978), ma solo in una minoranza assume il quadro clinico della cardiomiopatia restrittiva.

L'amiloidosi (v.*) è causa di danni cardiaci che assumono forme cliniche diverse, ma solo un limitato gruppo di pazienti presenta il profilo emodinamico di una cardiomiopatia restrittiva. La diagnosi definitiva viene posta dalla biopsia endomiocardica ma l'ecocardiografia (sia bidimensionale che eco-Doppler) rappresenta una tecnica non invasiva di grande utilità per formulare l'orientamento diagnostico (Missri, 1991).

**Forme con interessamento endomiocardico**

Le più comuni forme di cardiomiopatia restrittiva sono però quelle con interessamento endomiocardico, rappresentate dalla *endomiocardiofibrosi* e dalla *endocardite eosinofila di Loeffler* (che però, come già detto, vengono ora considerate come un'unica malattia: per la loro analitica trattazione si rinvia alla voce MIOCARDIOPATIE, IX, 1696-





Digitized by Google

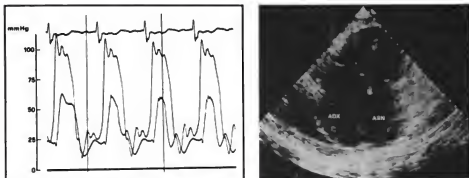



Fig. 2. *A sinistra*: curve pressorie ventricolari (registrazione simultanea) relative ad un paziente di 19 anni con cardiomiopatia restrittiva idiopatica. È presente la caratteristica morfologia a *dip-plateau* della fase diastolica. Le pressioni dei due ventricoli sono pressoché completamente equilibrate. *A destra*: ecocardiogramma bidimensionale (approccio apicale, sezione 4 camere) dello stesso soggetto: importante dilatazione biatriale a fronte di normali dimensioni ventricolari. ADX) Atrio destro; ASN) atrio sinistro.

1700), dalla sindrome da carcinoide e dalla cardiotossicità da antracicline (v.*; doxorubicina [v.*] soprattutto).

A proposito di quest'ultima, l'incidenza e la gravità della cardiomiopatia possono essere limitate da un attento dosaggio dei farmaci; danni evidenziabili dalla biopsia endomiocardica sono presenti già al dosaggio cumulativo di 250 mg/m$^2$, ma una tossicità clinica interviene a dosaggi superiori a 450 mg/m$^2$; mentre una tossicità acuta è reversibile, quella cronica è estremamente grave e può condurre a morte il paziente per insufficienza cardiaca (Calabresi e Chabner, 1990). L'incidenza della cardiomiopatia aumenta fino a oltre il 30% se la dose cumulativa supera i 600 mg/m$^2$, ed è fatale nel 30-50% dei casi.

Nella sindrome da carcinoide si ha spesso, anche se tardivamente, un interessamento cardiaco; più frequente è il coinvolgimento dell'endocardio delle valvole polmonare e tricuspide, ma talora è presente il quadro della cardiomiopatia restrittiva.

**Bibliografia**

Appleton C. P. *et al.*, *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1988, **11**, 757.
Calabresi P., Chabner B. A., *Antineoplastic Agents*, in Goodman Gilman A. *et al.*, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 8 ed., 1990, Pergamon Press, New York.
Child J. S., Perloff J. K., *The restrictive cardiomyopathy*, in Perloff J. K. ed., *The Cardiomyopathies, Cardiology Clinics*, 1988, vol. 6, Saunders, Philadelphia, pp. 289-316.
Johnson R. A., Palacios I., *Nondilated Cardiomyopathies*, in Stollerman G. H. *et al.*, *Adv. Int. Med.*, 1984, **30**, 243.
Lorell B. H., Grossman W., *Profiles in constrictive pericarditis, restrictive cardiomyopathy and cardiac tamponade*, in Grossman W. ed., *Cardiac Catheterization and Angiography*, 1986, Lea & Febiger, Philadelphia, pp. 427-445.
Missri J., *Ecocardiografia Doppler: applicazioni cliniche*, 1991, McGraw-Hill, Milano.
Ortolani P., Rapezzi C., Binetti G. *et al.*, *Cardiologia*, 1989, **34**, 759.
Siegel R. J. *et al.*, *Circulation*, 1984, **70**, 165.
Silverman K. *et al.*, *Circulation*, 1978, **58**, 1204.

BRUNO MAGNANI E CLAUDIO RAPEZZI

## MIOCARDIOPATIA O CARDIOMIOPATIA ARITMOGENA («DISPLASIA ARITMOGENA») DEL VENTRICOLO DESTRO

Si tratta di una malattia del miocardio ventricolare destro da causa sconosciuta caratterizzata, sul piano istologico, da progressiva sostituzione del normale miocardio con tessuto adiposo o fibroadiposo (Marcus *et al.*, 1982). L'entità del processo patologico è estremamente variabile, da casi con sostituzione dell'intera quota miocardica ed esclusione funzionale del ventricolo destro a casi con localizzazione a zone limitate del ventricolo. Il fenomeno può inoltre interessare anche zone circoscritte del ventricolo sinistro (Manyari *et al.*, 1983).

La cardiomiopatia aritmogena del ventricolo destro tende ad essere considerata una entità nosografica a se stante, distinta dalla cardiomiopatia dilatativa idiopatica. Anche se risalgono agli inizi degli anni '60 le prime descrizioni di casi assimilabili alla odierna definizione, solo negli ultimi anni la malattia ha ricevuto un inquadramento sistematico. L'interesse per l'argomento è inoltre ulteriormente aumentato in seguito alla osservazione di molti casi di morte improvvisa in giovani atleti affetti da forme minori, misconosciute in vita, della cardiomiopatia (Thiene *et al.*, 1988).

Sono generalmente colpiti pazienti di entrambi i sessi (con una leggera prevalenza di quello maschile) di età generalmente compresa fra 7 e 40 anni. In tal senso la cardiomiopatia aritmogena differisce da un'altra strettamente correlata sotto il profilo anatomico, la malattia di Uhl (v. UHL, MALATTIA DI), la cui espressione clinica (scompenso e cianosi) è estremamente più precoce.

Più frequentemente i soggetti affetti sono asintomatici o riferiscono episodi di cardiopalmo come unico sintomo; la obiettività fisica è generalmente normale tranne nei casi con evoluzione verso lo scompenso cardiaco congestizio. È documentata una incidenza familiare della malattia (Nava *et al.*, 1988), con una modalità di trasmissione di tipo autosomico dominante a penetranza incompleta.

L'*elettrocardiogramma* è caratterizzato dalla negatività dell'onda T nelle derivazioni precordiali, generalmente in V1-V4; i ritardi di conduzione intraventricolare destra non fanno invece parte integrante del quadro elettrocardiografico.

Le *aritmie ipercinetiche ventricolari*, facilmente rilevabili all'esame Holter e frequentemente innescate dall'esercizio fisico, rappresentano la principale caratteristica della malattia. Battiti ectopici ventricolari, tachicardie ventricolari sostenute e non, hanno in comune la morfologia a blocco di



Digitized by Google

Fig. 3. Ecocardiogramma bidimensionale (approccio parasternale, sezione trasversale) di una paziente di 45 anni con cardiomiopatia aritmogena del ventricolo destro. La porzione infundibolare del ventricolo destro è marcatamente dilatata a fronte di normali dimensioni dell'*anulus* e del tronco polmonare. INF) Infundibolo; AP) arteria polmonare.

branca sinistra del complesso QRS. Tale dato, in un soggetto giovane e con onde T negative nelle derivazioni precordiali destre, rappresenta in genere il primo elemento di sospetto, in grado di avviare l'*iter* diagnostico.

Nelle forme conclamate il ventricolo destro è dilatato e diffusamente ipocinetico e ciò è facilmente rilevabile all'*ecocardiogramma*, alla *angiocardiografia radioisotopica* e all'*angiografia*. Più problematico risulta il riconoscimento morfologico delle forme iniziali o comunque lievi della malattia. In tale contesto risultano particolarmente utili alcuni «segni» altamente caratteristici, rilevabili all'angiografia o all'ecocardiogramma bidimensionale (fig. 3):

— acinesie, discinesie o aneurismi distrettuali, preferenzialmente localizzati a livello dell'apice ventricolare, del tratto di efflusso o della superficie diaframmatica («triangolo delle displasie»);

— aspetto trabecolato, «a pila di piatti», del profilo ventricolare anteriore.

La *storia naturale* della malattia è condizionata dalle aritmie ipercinetiche ventricolari, potenzialmente in grado di provocare morte improvvisa. È documentata inoltre la possibilità di progressione verso lo scompenso cardiaco congestizio da parte di casi con presentazione iniziale esclusivamente aritmica.

Il *trattamento* ottimale della malattia non è ancora stabilito. I betabloccanti, l'amiodarone e gli antiaritmici del gruppo 1, singolarmente o in associazione, rappresentano comunque i farmaci più usati nel trattamento delle aritmie e nella profilassi della morte improvvisa. È cruciale in ogni caso l'abolizione degli sforzi fisici intensi.

**Bibliografia**

Guiraudon G. M., *Eur. Heart. J.*, 1989, **10** (Suppl. D), 82.
Leclerq J. F., *Eur. Heart. J.*, 1989, **10** (Suppl. D), 61.
Manyari D. E. *et al.*, *Circulation*, 1983, **68**, 251.
Manyari D. E. *et al.*, *Am. J. Cardiol.*, 1986, **57**, 1147.
Marcus F. I. *et al.*, *Circulation*, 1982, **65**, 384.
Marcus F. I., *Eur. Heart. J.*, 1989, **10** (Suppl. D), 68.
Nava *et al.*, *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1988, **12**, 1222.
Thiene G. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1988, **318**, 129.

BRUNO MAGNANI E CLAUDIO RAPEZZI

## MIOGLOBINE [v. vol. IX, col. 1751]

SOMMARIO



### Aspetti strutturali della mioglobina

La mioglobina [Mb] è una emoproteina monomerica caratterizzata da una singola catena polipeptidica (ordinata generalmente in 8 tratti di α-elica) e da un unico gruppo prostetico, l'eme, formato dalla protoporfirina IX che chela, al centro, un atomo di ferro. L'atomo di ferro forma 6 legami di coordinazione, di cui 4, coplanari al piano dell'eme, con gli atomi di azoto in posizione 5 in ciascuno dei 4 anelli pirrolici della protoporfirina IX, e 2 in direzione assiale rispetto al piano dell'eme. In particolare, il quinto legame di coordinazione dell'atomo di ferro (detto prossimale) coinvolge l'atomo di azoto in posizione ε del residuo imidazolico presente in posizione F8, mentre il sesto legame di coordinazione del centro metallico (detto distale) partecipa alla formazione dei complessi del ferro con i leganti. La geometria del complesso formato dall'atomo di ferro e il legante nella sesta posizione di coordinazione del centro metallico, in sede distale, dipende sensibilmente dalle caratteristiche del legante; in particolare, la molecola dell'ossigeno si lega all'atomo di ferro allo stato ferroso formando un angolo di 115 ± 5° (fig. 1) (v. EMOGLOBINE).

### Rapporti struttura-funzione nella mioglobina

La formazione dei complessi della Mb con i leganti è conforme al meccanismo semplice, tipico delle macromolecole

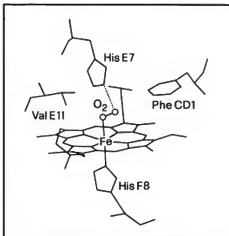



Fig. 1. Rappresentazione schematica del complesso formato dall'atomo di ferro dell'eme allo stato ferroso della Mb di capodoglio con la molecola dell'ossigeno. La *linea punteggiata* rappresenta il legame idrogeno, presente nella porzione distale della tasca dell'eme, fra l'atomo di ossigeno del legante gassoso e l'atomo di azoto in posizione ε del residuo imidazolico generalmente presente in posizione E7. (*Da Phillips S.E.V., 1980, ridisegnata*).

che presentano un singolo centro di reazione. Tale evento è caratterizzato da variazioni strutturali del sito attivo non dissimili da quelle osservate nelle emoproteine multimeriche (v. EMOGLOBINE; METEMOGLOBINA). In particolare, la posizione dell'atomo di ferro, rispetto al piano della porfirina, rappresenta un elemento strutturale fondamentale nella modulazione dell'interazione della Mb con i leganti. Anche la porzione distale della tasca dell'eme partecipa alla modulazione della reattività controllando l'accessibilità dei leganti al centro di reazione. Infatti, mentre la conformazione dei residui aminoacidi presenti nella porzione distale della tasca dell'eme permette la coordinazione all'atomo di ferro dei leganti fisiologici (quali una molecola di ossigeno, al centro metallico allo stato ferroso, e generalmente una molecola d'acqua, al centro metallico allo stato ferrico, entrambe stabilizzate dalla formazione di un legame idrogeno con l'atomo di azoto in posizione ε del residuo imidazolico generalmente presente in posizione E7) (fig. 1), l'interazione con leganti non fisiologici è accompagnata da significative perturbazioni della geometria dell'intorno proteico del centro di reazione.

Sebbene, in condizioni fisiologiche, l'affinità della Mb per i leganti sia pressoché insensibile alle variazioni dei parametri chimicofisici del mezzo, la formazione dei complessi della Mb con l'ossigeno e leganti non fisiologici è modulata, in ambiente acido, dagli equilibri di protonazione dell'atomo di azoto in posizione ε dei residui imidazolici presenti in posizione F8 e generalmente in posizione E7 e dei residui propionici dell'eme, e dalla interazione con anioni (v. EMOGLOBINE; METEMOGLOBINA).

**Sintesi e organizzazione genica della mioglobina**

Il gene della Mb presenta generalmente 3 esoni a cui si alternano 2 introni (v. EMOGLOBINE). I 3 esoni codificano 3 diversi domini della Mb: infatti, l'esone centrale codifica la porzione di globina coinvolta nell'interazione con l'eme costituendo il centro di reazione, mentre i 2 esoni laterali codificano sequenze aminoacidiche, essenzialmente inerti dal punto di vista funzionale, che partecipano alla stabilizzazione della struttura della macromolecola. Tali osservazioni sembrano suggerire che la molecola di Mb possa rappresentare l'emoproteina ancestrale da cui in seguito si è evoluta la molecola dell'emoglobina, mediante variazioni delle sequenze corrispondenti agli esoni laterali tali da farle acquisire la capacità di modulare l'affinità per i leganti in condizioni fisiologiche (v. EMOGLOBINE).

**Funzioni fisiologiche della mioglobina**

Sebbene la grande ricchezza in Mb dei muscoli striati dei mammiferi acquatici abbia suggerito per tale emoproteina monomerica l'«ufficio di una riserva di ossigeno fisiologicamente funzionante interposta tra i trasportatori di $O_2$ e i sistemi enzimatici preposti alle ossidazioni», il ruolo principale, nel muscolo umano, della Mb è quello di trasportare l'ossigeno, ovvero di facilitarne la diffusione, dai capillari ai mitocondri. Infatti, in presenza della Mb allo stato ferroso, la quantità di ossigeno che diffonde per unità di tempo è maggiore di quella che ci si aspetterebbe dalla semplice proporzionalità rispetto al gradiente di concentrazione del gas. La diffusione facilitata dell'ossigeno da parte della Mb dipende sia dalle condizioni di reversibilità della reazione dell'emoproteina con il legante (cioè dalla velocità con cui il legante si dissocia da una molecola di Mb per legarsi ad un'altra) sia dalla possibilità che il complesso formato dall'emoproteina e dal legante possa muoversi nell'ambiente. Dal punto di vista fisiologico, il fenomeno della diffusione facilitata è descrivibile come un continuo flusso di molecole di ossigeno da una molecola all'altra di Mb, dai capillari ai mitocondri, anche se il meccanismo fisico in realtà consiste nella diffusione traslazionale delle molecole di Mb ossigenata. Tale evento non ha luogo nei sistemi in cui la tendenza del legante a dissociare dalla Mb sia minima (v. MUSCOLO).

V. anche: EMOGLOBINE*; METEMOGLOBINA*; MUSCOLO.

**Bibliografia**


Antonini E., Brunori M., *Frontiers of Biology*, 21. *Hemoglobin and Myoglobin in their Reactions with Ligands* (Neuberger A., Tatum E. L. eds.), 1971, North Holland, Amsterdam, London.

Antonini E., Rossi-Bernardi L., Chiancone E. eds., *Methods in Enzymology*. 76. *Hemoglobins*, 1981, Academic Press, New York.

Brunori M., Coletta M., Giardina B., *Oxygen Carrier Proteins*, in Harrison P. M. ed., *Topics of Molecular and Structural Biology*. 7. *Metalloproteins*, 1985, Macmillan, London, p. 263.

Bunn H. F., Forget B. G., *Hemoglobin: Molecular, Genetic and Clinicl Aspects*, 1986, Saunders, Philadelphia.

De Sanctis G., Falcioni G., Giardina B., Ascoli F., Brunori M., *J. Mol. Biol.*, 1986, **188**, 73.

Dickerson R. E., Geis I., *Hemoglobin: Structure, Function, Evolution, and Pathology*, 1983, The Benjamin/Cummings, Menlo Park.

Fermi G., Perutz M. F., *Atlas of Molecular Structures in Biology*. 2. *Haemoglobin and Myoglobin* (Phillips D. C., Richards F. M. eds.), 1981, Clarendon Press, Oxford.

Phillips S. E. V., *J. Mol. Biol.*, 1980, **142**, 531.

Weller J. B., Jeffreys A. J., Wilson V., Blanchetot A., *EMBO J.*, 1984, **3**, 439.

Wittenberg J. B., *Physiol. Rev.*, 1970, **50**, 559.


PAOLO ASCENZI E MASSIMO COLETTA

## MITOCONDRI [v. vol. IX, col. 1787]

SOMMARIO



## GENOMA MITOCONDRIALE

### Genetica molecolare

Un aggiornamento del capitolo *genoma mitocondriale* si impone oggi come particolarmente importante dato l'enorme sviluppo che l'argomento ha avuto nell'ultimo decennio.

I risultati ottenuti negli anni '60 e '70 avevano già evidenziato la presenza in tutte le cellule eucariotiche di un genoma mitocondriale (costituito per lo più da molecole circolari a doppia elica, di dimensioni diverse in vari gruppi di organismi viventi) e di un apparato mitocondriale per le sintesi macromolecolari. Erano inoltre stati identificati vari prodotti genici mitocondriali: i due RNA dei ribosomi mitocondriali, vari tRNA, 3 subunità della citocromossidasi, 2 o 3 della ATPasi, il citocromo b.

Tuttavia è stato con l'avvento delle tecniche di ingegneria genetica, in particolare quelle di clonaggio e di sequen-





Digitized by Google

ziamento del DNA, che lo studio del DNA mitocondriale (mtDNA) ha rivelato appieno le sue straordinarie potenzialità e, in particolare, lo studio del DNA mitocondriale umano ha fatto progressi fino a quel momento inimmaginabili.

Alla fine degli anni '70 il genoma mitocondriale più conosciuto era senz'altro quello del lievito *Saccharomyces cerevisiae*, nel quale la funzione mitocondriale non è indispensabile (il lievito può ricavare energia dai processi fermentativi), per cui è possibile isolare mutanti mitocondriali che in altre cellule sarebbero letali. Questa eccezionale caratteristica, combinata con la possibilità di ottenere ricombinazione dei genomi mitocondriali negli incroci, aveva consentito di ricavare, con i metodi della genetica classica, conoscenze abbastanza estese sulla funzione e localizzazione dei geni mitocondriali in lievito. Le conoscenze su altri genomi mitocondriali, in particolare sul genoma umano, restavano invece assai limitate.

Quando però divennero disponibili le tecniche di clonaggio e di sequenziamento (v. CLONE E CLONAZIONE*; INGEGNERIA GENETICA*), furono i genomi mitocondriali di mammifero (tutti di dimensioni limitate intorno alle 16.000 paia di basi) ad essere rapidamente sequenziati e a divenire accessibili a studi dettagliati della espressione genica, dei polimorfismi di restrizione e delle eventuali mutazioni.

Così il primo genoma eucariotico completamente sequenziato fu il genoma mitocondriale umano (Anderson *et al.*, 1981) seguito a poca distanza da quello di bovino (Anderson *et al.*, 1982).

Le sequenze così determinate dimostrarono la natura estremamente compatta dei genomi mitocondriali dei mammiferi. Nonostante le dimensioni ridotte, il contenuto informazionale era più elevato di quello presente nei genomi mitocondriali di altri organismi, quali ad es. i funghi: è presente infatti in tutti i genomi mitocondriali di vertebrati finora sequenziati (e non in quelli di altri organismi) l'informazione genetica per 7 subunità della NADH deidrogenasi.

Una comparazione del contenuto informazionale dei genomi mitocondriali più noti è riportata in fig. 1.

Nel genoma mitocondriale umano (mtDNA), rappresentato in fig. 2, la maggior parte dei geni è localizzata su uno dei due filamenti del DNA (filamento H, per *heavy* = pesante) che è completamente saturato di geni. Questi ultimi non sono interrotti da sequenze estranee (introni) e sono contigui l'uno all'altro o separati da pochissimi nucleotidi. I geni per i tRNA sono disposti regolarmente fra i geni codificanti per rRNA o proteine e molto probabilmente servono come segnali per la maturazione del prodotto multigenico della trascrizione.

Nei DNA di mammifero, infatti, ognuno dei due filamenti del DNA viene trascritto completamente a partire da promotori localizzati in una ristretta regione priva di geni in cui si trova anche l'origine di replicazione (regione del «D-*loop*»). Esiste anche una trascrizione parziale del filamento H che porta alla sintesi degli RNA ribosomali in quantità 60 volte superiore a quella degli RNA messaggeri (Attardi e Schatz, 1988).

La struttura compatta del genoma mitocondriale è comune a tutti i genomi animali, ed è assai diversa da ciò che

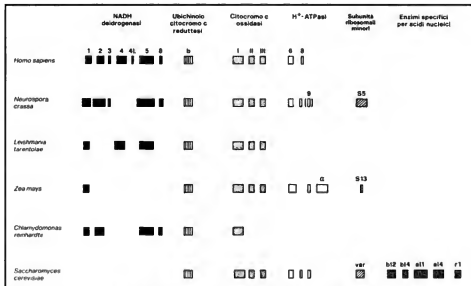



Fig. 1. Presenza dell'informazione genetica per proteine nei genomi mitocondriali di diversi organismi. Con i numeri sono indicate le varie subunità dei diversi complessi enzimatici: b indica il citocromo b; S5, S13 e var indicano specifiche proteine dei ribosomi mitocondriali. Le sigle bl2, bl4, al1, al4, r1 si riferiscono ad un caso di estremo interesse che si riscontra in lievito. Alcuni geni sono interrotti da sequenze estranee (introni) le quali codificano per proteine necessarie all'escissione dell'introne stesso o comunque attive sugli acidi nucleici. Per una rassegna recente, cfr. Attardi e Schatz (1988). (*Da Attardi e Schatz, 1988, ridisegnata*).

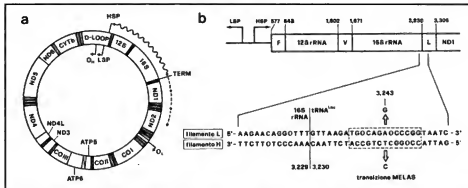



Fig. 2. *a*) Rappresentazione del mtDNA umano. Le aree *in grigio* rappresentano i 22 tRNA mentre le regioni che codificano per proteine o per gli RNA ribosomali da 12 e 16S, e le regioni di controllo sono *in bianco*. $O_H$ e $O_L$ indicano le origini di replicazione del DNA, rispettivamente, del filamento pesante e del filamento leggero, mentre HSP e LSP indicano i rispettivi promotori delle trascrizioni. La *linea ondulata* che parte da HSP indica un trascritto che può terminare in corrispondenza del segnale tridecanucleotidico indicato in fig. 2*b*, o continuare oltre (*trascritti tratteggiati*).

*b*) Schema della regione del D-*loop* e della regione di terminazione della trascrizione. F, V e L sono i geni per i tRNA, *Phe*, *Val* e *Leu*, rispettivamente. Il dettaglio indicato in basso riporta la sequenza del sito, localizzato dentro il gene per $tRNA^{Leu}$, in cui si ha terminazione della trascrizione in corrispondenza del tridecanucleotide indicato da un riquadro. Le *frecce chiare* indicano il sito (posizione 3243) della transizione associata con la encefalomiopatia mitocondriale MELAS (v. sotto, coll. 5187 e 5193). (*Da Hess et al., 1991, ridisegnata*).

si osserva nei funghi in cui il genoma mitocondriale ha dimensioni molto variabili (da 19 a 100 kb), ma in cui in genere i geni sono immersi in ampie regioni intergeniche e interrotti da introni.

Un caso particolarmente complesso è rappresentato dai genomi mitocondriali delle piante. Questi ultimi hanno dimensioni di gran lunga superiori a quelle degli altri organismi e questo ha rappresentato per molto tempo un problema assai difficile da spiegare, visto che il contenuto informazionale non risulta particolarmente alto, anzi il numero di proteine codificate dal mtDNA viene valutato intorno a 15. Le dimensioni del mtDNA possono variare dalle 200 kb di *Brassica* alle 2500 kb di alcune cucurbitacee, con una variabilità di 7 volte all'interno delle sole cucurbitacee.

A tutt'oggi l'origine di questa straordinaria variabilità e complessità genetica dei genomi delle piante non è del tutto chiara, ma si è visto che è collegata con una elevata frequenza di riarrangiamenti dovuti a ricombinazioni sia intra- che intermolecolari.

In molti genomi mitocondriali di piante si trovano infatti ripetizioni multiple dirette e invertite che, per ricombinazione, danno origine a molecole circolari di varie dimensioni.

Un altro aspetto di estremo interesse è la presenza di sequenze cloroplastiche nei genomi mitocondriali di molte piante, come anche di sequenze mitocondriali e cloroplastiche in DNA nucleari. È stato suggerito che il passaggio di informazione genetica fra i vari comparti cellulari delle piante possa essere avvenuto attraverso la trascrizione inversa degli RNA e la successiva integrazione del prodotto di un altro genoma (per una rassegna recente, cfr. Levings e Brown, 1989).

Una conseguenza estremamente importante del sequenziamento dei genomi mitocondriali e della comparazione delle relative sequenze con quelle delle proteine corrispondenti è stata la dimostrazione della non universalità del codice genetico. La tripletta UGA, priva di senso negli altri genomi, significa triptofano nei mitocondri degli animali, dei funghi e dei protozoi, ma non in quelli delle piante superiori. Altre differenze di codice sono state trovate fra sistemi genetici mitocondriali anche appartenenti a organismi filogeneticamente vicini. La decodificazione dell'informazione genetica mitocondriale avviene con un sistema semplificato del tipo «due basi su tre» che richiede un numero limitato (22-24) di tRNA.

Un altro aspetto interessante della decodificazione dell'informazione genetica mitocondriale è il fenomeno dell'*editing* che si osserva nei m. delle piante e nei cinetoplasti dei tripanosomi. In questi organelli si ritrovano sequenze di DNA che non corrispondono a quelle dei messaggeri maturi e quindi delle proteine. Ad es. nel grano la presenza nelle proteine di triptofano corrisponde nel DNA alla tripletta CGG (arginina), ma non si tratta di una deviazione dalla universalità del codice genetico. Infatti nel cDNA, ottenuto per trascrizione inversa dai messaggeri, si trova, nelle posizioni corrispondenti, la tripletta UGC che codifica effettivamente per triptofano. In altri termini il messaggio genetico contenuto nel DNA è stato corretto (*editing*) sostituendo in alcuni punti una U a una C (Gualberto *et al.*, 1989).

**Cenni sulle malattie genetiche mitocondriali**

Un campo nel quale si sono registrati negli ultimi anni progressi straordinari è quello delle malattie genetiche mitocondriali (v. sotto, col. 5188).

Sono note una serie di malattie genetiche trasmesse in via esclusivamente materna, per le quali si può sospettare la dipendenza da una mutazione mitocondriale. Si tratta di patologie riconducibili a difetti della fosforilazione ossidativa che includono miopatie ed encefalomiopatie. Alcune miopatie coinvolgono i muscoli oculari e causano un'oftalmoplegia esterna progressiva.

Le caratteristiche fondamentali di queste malattie sono state così riassunte da Wallace *et al.* (1988):





Digitized by Google

eredità materna, riscontrabile nei *pedigree* per più generazioni;

deficienze nella fosforilazione ossidativa;

presenza di una alterazione in una parte consistente dei genomi mitocondriali;

conseguente esistenza di popolazioni di mtDNA miste (eteroplasmia) in cui la quantità di molecole di mtDNA alterate corrisponde all'entità del difetto nella fosforilazione ossidativa e alla gravità dei sintomi.

In numerose malattie genetiche mitocondriali la mutazione mitocondriale è stata identificata. In alcuni casi si tratta di mutazioni puntiformi per sostituzione di basi in geni mitocondriali codificanti per subunità di enzimi della catena respiratoria terminale. È questo il caso della neuropatia ottica ereditaria di Leber (v. LEBER, SINDROME DI*), in cui la sostituzione di una guanina con una citosina nella posizione 11778 del DNA mitocondriale provoca la sostituzione di un'arginina, altamente conservata filogeneticamente, con un'istidina nel gene per la subunità 4 della NADH deidrogenasi (Singh *et al.*, 1989). Probabilmente il fatto che la sostituzione implichi l'inserimento al posto dell'arginina di un altro aminoacido basico provoca una riduzione solo molto parziale dell'attività NADH-deidrogenasica. Ciò potrebbe provocare un danno cellulare progressivo e spiegherebbe l'insorgenza tardiva della malattia.

Una mutazione localizzata in un tRNA è stata identificata nella encefalomiopatia MERRF (v. sotto, col. 5191).

In un altro caso, quello dell'encefalomiopatia MELAS (v. sotto, col. 5193), la mutazione puntiforme (una transizione T → C) è localizzata in una sequenza di tredici paia di basi immediatamente a valle del gene per lo rRNA da 16S (fig. 2, *b*). Tale sequenza, che è localizzata all'interno del gene per $tRNA^{Leu}$, rappresenta il segnale per la terminazione della trascrizione dei due rRNA ribosomali, che, come abbiamo visto sopra, sono presenti nei m. in quantità molto maggiori di quelle dei messaggeri. La mutazione MELAS porta ad una forte diminuzione della terminazione della trascrizione dopo i due geni per gli rRNA ed elimina quindi il più importante sito di controllo per la regolazione del rapporto tra sintesi degli rRNA e degli altri prodotti mitocondriali (Hess *et al.*, 1991).

Nella sindrome di Kearns-Sayre (oftalmoplegia esterna progressiva; v. KEARNS-SAYRE, SINDROME DI*) si hanno invece diverse delezioni di parti consistenti del genoma mitocondriale (da 1,3 a 7,6 kb) per cui il difetto potrebbe essere dovuto alla mancanza, nelle molecole «delete», di geni per subunità del complesso respiratorio 1 o di geni necessari per la sintesi proteica mitocondriale (Moraes *et al.*, 1989).

In tutti i casi sopra descritti ci si è trovati a dover affrontare una serie di problemi quali la variabile penetranza dei difetti (in genere dovuta alla coesistenza nello stesso individuo di molecole di mtDNA mutate e non mutate in varie proporzioni), la straordinaria specificità di tessuto e la pleiotropicità della disfunzione mitocondriale.

Recentemente questi problemi sono stati affrontati (Chomyn *et al.*, 1991) con una tecnica che permette di inserire m. di mioblasti in coltura provenienti da vari pazienti con miopatie mitocondriali in cellule umane private del DNA mitocondriale per crescita prolungata in presenza di bromuro di etidio.

I risultati hanno dimostrato che il difetto mitocondriale viene trasferito con i m. del paziente e che differenti mioblasti di quest'ultimo contengono o DNA di tipo selvatico o DNA mutato e cioè che l'eteroplasmia non è intracellulare. Sviluppi di questo approccio sperimentale potranno stabilire un legame diretto fra alterazione del genoma mitocondriale e difetto biochimico.

**Bibliografia**


Anderson S., de Bruijn M. H. L., Coulson A. R., Eperon I. C., Sanger F. *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 1982, **156**, 683.
Anderson S., Bankier A. T., Barrell B. G., de Bruijn M. H. L., Coulson A. R. *et al.*, *Nature*, 1981, **290**, 457.
Attardi G., Schatz G., *Ann. Rev. Cell. Biol.*, 1988, **4**, 289.
Chomyn A., Meda G., Bresolin N., Lai S. T., Scarlato G., Attardi G., *Mol. Cell. Biol.*, 1991, **11**, 2236.
Gualberto J. M. *et al.*, *Nature*, 1989, **341**, 660.
Hess J. F., Parisi M. A., Bennett J. L., Clayton D. A., *Nature*, 1991, **351**, 236.
Levings C. S., Brown G. G., *Cell*, 1989, **56**, 171.
Moraes C. T. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1989, **320**, 1293.
Singh G., Lott M. T., Wallace D. C., *N. Engl. J. Med.*, 1989, **320**, 1300.
Wallace D. C., Zheng X., Lott M. T., Shoffner J. M., Hodge J. A., Kelley R. I., Epstein C. M., Hopkins L. C., *Cell*, 1988, **55**, 601.


LAURA FRONTALI

## MALATTIE MITOCONDRIALI

### Introduzione

Le mitocondriopatie formano un complesso eterogeneo di malattie, la cui scoperta è relativamente recente. Possono essere multisistemiche o interessare prevalentemente un solo organo o tessuto.

I m. (v. CELLULA, III, 1372; MITOCONDRI, IX, 1787) sono organelli, di origine endosimbiotica, presenti in tutte le cellule che possiedono un metabolismo aerobio. L'origine procariotica dei m. è suggerita da una serie di caratteristiche, quali ad es. il codice genetico, il tipo di RNA ribosomale ed i meccanismi di importazione di proteine dal citoplasma. La loro principale funzione è quella di produrre, mediante l'ossidazione di vari substrati, l'ATP necessario per mantenere l'integrità metabolica della cellula.

La maggior parte delle malattie mitocondriali note sono di natura ereditaria. Sono state peraltro identificate alcune forme acquisite di patologia primitiva mitocondriale: la deplezione di DNA mitocondriale in soggetti sottoposti a prolungata terapia con 3'-azido-2', 3'-dideossitimidina (AZT o zidovudina [v.]), la diminuzione dell'attività della citocromossidasi nella miocardiopatia da adriamicina, un farmaco antiblastico; la diminuzione dell'attività della piruvato-deidrogenasi nelle carenze di tiamina e della piruvato-carbossilasi in quelle di biotina; la diminuzione dell'attività delle deidrogenasi degli acidi grassi, soprattutto a lunga e media catena, nella carenza di riboflavina. Si può anche verificare un difetto mitocondriale secondario ad alterazioni genetiche che interessano il trasporto intestinale di ioni, come ad es. quello del rame nella sindrome di Menkes (v. MENKES, SINDROME DI). La deficienza di rame causa una diminuzione dell'attività della citocromossidasi, che è un enzima rame-dipendente.

### Aspetti genetici delle mitocondriopatie

A differenza degli altri organelli subcellulari, le proteine dei m. sono codificate da geni costituenti due genomi distinti, localizzati, rispettivamente, nel nucleo della cellula e nei m. stessi. Le proteine codificate da geni nucleari sono sintetizzate nei ribosomi citoplasmatici e devono quindi essere importate nei m. I meccanismi responsabili dell'*importazione* sono complessi e solo recentemente hanno cominciato ad essere chiariti, grazie allo studio di eucarioti inferiori, come i lieviti. Sono stati identificati due sistemi di importazione. Il principale è utilizzato da quelle proteine che sono sintetizzate con una presequenza specifica aminoterminale, ricca di aminoacidi basici. Questi precursori si legano ad una proteina recettoriale, localizzata nella membrana mitocondriale esterna. Il trasporto attraverso le membrane esterna ed interna del m. avviene nei siti dove le due membrane mitocondriali sono a contatto, è facilitato da





Digitized by Google

una proteina detta GIP (*general insertion protein*) ed è dipendente dal potenziale (ΔΨ) della membrana interna e dalla disponibilità di ATP o GTP. Una volta entrata nella matrice mitocondriale, la proteina precursore viene attaccata da proteasi altamente specifiche che staccano la presequenza. Questa elaborazione è indispensabile per l'assemblaggio del peptide importato nei complessi polimerici degli enzimi della matrice, per l'inserimento del peptide nella membrana interna o per il suo retrotrasporto nello spazio fra le membrane mitocondriali interna ed esterna.

Il secondo sistema di importazione è utilizzato dalle proteine che sono sintetizzate senza la presequenza specifica come, ad es., l'ADP/ATPtraslocasi e l'apocitocromo $c_1$. Il citocromo $c_1$ può passare attraverso la membrana mitocondriale esterna, indipendentemente da proteine recettoriali e dal potenziale della membrana interna. L'apocitocromo tende spontaneamente ad inserirsi in una membrana lipidica. L'indirizzo preciso per la sua localizzazione è probabilmente fornito dalla citocromo c-eme-liasi che lega covalentemente il gruppo eme all'apocitocromo. L'identificazione dei meccanismi del trasporto delle proteine nei m. di mammiferi permetterà di chiarirne i difetti molecolari. È stata, ad es., recentemente descritta una mitocondriopatia in cui la carenza nei m. della proteina-Fe-S di Rieske si accompagna all'accumulo nel citoplasma del suo precursore.

Il DNA mitocondriale umano (2-10 molecole per m.) è una molecola circolare costituita da una catena pesante ed una leggera per un totale di 16.569 paia di basi. Codifica per due RNA ribosomali (12S e 16S), 22 RNA-*transfer* (tRNA) e 13 RNA-messaggeri. I 13 peptidi codificati dal DNA mitocondriale sono tutti costituenti della catena respiratoria. In particolare, 7 subunità (1, 2, 3, 4L, 4, 5, 6) del complesso I, una subunità (apocitocromo b) del complesso III, tre subunità maggiori (I, II, III) del complesso IV e due subunità (6, 8) del complesso V. Non esistono subunità del complesso II codificate dal DNA mitocondriale.

Le malattie mitocondriali possono essere causate da uno dei meccanismi riportati in tab. I.

Data l'esistenza di due genomi, i meccanismi di trasmissione ereditaria sono duplici: *ereditarietà di tipo mendeliano* (di solito di tipo autosomico recessivo o legato al sesso) ed *ereditarietà di tipo materno*. In quest'ultimo tipo di trasmissione ereditaria, il difetto viene trasmesso *solo dalla madre* e colpisce sia maschi che femmine, dal momento che tutti i m. presenti nello zigote sono derivati dalla cellula uovo.

La ereditarietà mitocondriale ha anche due ulteriori importanti caratteristiche che derivano dal fatto che, nella maggioranza dei casi, le cellule sono eteroplasmatiche, cioè contengono m. con DNA normale e m. con DNA alterato. La prima caratteristica è la segregazione mitotica. Durante i processi di divisione cellulare, la distribuzione dei m. con DNA normale e di quelli con DNA alterato nelle cellule figlie è stocastica, cioè di tipo casuale (fig. 3). Nelle cellule figlie, quindi, la percentuale di m. con DNA alterato è molto variabile.

Il processo di segregazione mitotica ha importanti conseguenze. Quando si verifica nella divisione meiotica del-

**TAB. I. MECCANISMI PATOGENETICI DELLE MALATTIE MITOCONDRIALI**

**A) Alterazioni delle proteine codificate da geni nucleari**
- alterazione dei geni strutturali
- alterazione dei meccanismi di trascrizione e traduzione
- alterazione dei meccanismi post-traduzionali che regolano l'importazione dei peptidi a sintesi citoplasmatica nei m. (recettori mitocondriali, interazione del peptide con i recettori, traslocazione attraverso le membrane mitocondriali, proteolisi della presequenza, alterazioni delle proteine «chaperon» che mantengono le proteine neosintetizzate nella configurazione ottimale per l'importazione)

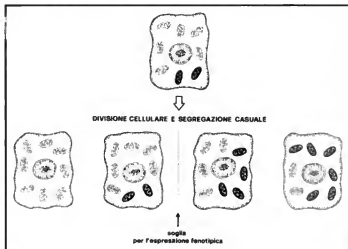
**B) Alterazioni delle proteine codificate dai geni del DNA mitocondriale**
- alterazione dei geni strutturali
- alterazione dei geni degli RNA-*transfer* (tRNA)

**C) Alterazione dei geni nucleari che controllano i geni mitocondriali**

Fig. 3. Segregazione mitotica. Durante la divisione cellulare, la distribuzione, nelle cellule figlie, dei m. con DNA alterato avviene casualmente. Quando la quantità di m. con DNA mutato supera un valore soglia si ha la comparsa della malattia. In *chiaro*, i m. normali; in *scuro*, i m. con DNA mutato.





Digitized by Google

l'uovo, determina una variabilità nelle manifestazioni fenotipiche della malattia nei figli della stessa madre portatrice. Quando si verifica durante le divisioni mitotiche delle cellule somatiche dell'embrione, ha come conseguenza un grado diverso di deficit funzionale nei vari organi.

Deve essere tuttavia tenuto presente che l'interessamento differenziale degli organi può essere anche messo in relazione all'esistenza di forme molecolari diverse (isoforme) di subunità che sono codificate dal DNA nucleare, come nel caso della citocromossidasi. I geni per queste isoforme sono sotto un controllo specifico sia per il tipo di tessuto che per lo stadio del differenziamento. La segregazione mitotica del DNA mitocondriale ha anche altre conseguenze. Se, ad es., una cellula figlia riceve una quantità di DNA alterato elevata e incompatibile con la sua fisiologia, la cellula muore ed il difetto genetico tende ad essere eliminato. Questo fenomeno è riscontrabile soprattutto nei tessuti costituiti da cellule in attiva moltiplicazione e, *in vitro*, nelle colture cellulari. È infatti raro che tessuti costituiti da cellule con elevata attività mitotica, come il midollo emopoietico, presentino deficit funzionali dei m. Esistono tuttavia malattie in cui anche questo tessuto è colpito, come, ad es., la *sindrome di Pearson*. Questa malattia è caratterizzata da alterazioni epatiche, renali e del pancreas esocrino oltre che da pancitopenia con anemia sideropenica refrattaria. Sono state riportate delezioni del DNA mitocondriale nei linfociti di questi pazienti.

Una seconda importante caratteristica della citoplasmia cellulare per il DNA mitocondriale è rappresentata dall'*effetto soglia*. Una cellula può dimostrare sofferenza per l'alterazione del DNA mitocondriale, quando la quantità di DNA mitocondriale normale è sotto una soglia critica per la fisiologia della cellula stessa. Per es., è stato osservato che è sufficiente una quantità di DNA normale pari a circa il 10-20% del totale nelle cellule di pazienti con MERRF (*Myoclonic Epilepsy with Ragged Red Fibers*, v. sotto) per renderli asintomatici. Va tuttavia osservato che il DNA mitocondriale ha un tasso di mutazione che è un ordine di grandezza più elevato rispetto al tasso di mutazione del DNA nucleare, probabilmente perché, a differenza di quello nucleare, il DNA mitocondriale non possiede sistemi riparativi. Inoltre, durante il loro metabolismo, i m. producono in grande quantità radicali liberi dell'ossigeno che danneggiano il DNA. È stato proposto che l'accumulo di alterazioni del DNA mitocondriale durante la vita porti ad un progressivo deficit mitocondriale, soprattutto nei tessuti costituiti da cellule che hanno perduto la capacità mitotica, come il tessuto muscolare. Effettivamente, una diminuzione progressiva dell'attività della catena respiratoria dei m. muscolari, è stata osservata nell'invecchiamento.

Nei pazienti con mitocondriopatie è possibile che, nei primi anni di vita, la quantità di DNA normale, soprattutto nelle cellule muscolari e nervose, sia superiore alla soglia critica e quindi i pazienti siano asintomatici. Data la progressiva alterazione del DNA normale per i motivi sopraesposti, nel corso della vita la quantità di DNA normale si riduce fino a scendere sotto la soglia critica con conseguente inizio della sintomatologia. Quanto maggiore è la quantità di DNA normale alla nascita tanto più prolungato è il periodo asintomatico. Una correlazione fra quantità di DNA normale ed età di insorgenza della sintomatologia è stata osservata in pazienti con MERRF.

È da tenere infine presente che i geni nucleari codificano anche per proteine che regolano la replicazione e la trascrizione del DNA mitocondriale. Recentemente è stata identificata una miopatia mitocondriale caratterizzata da delezioni del DNA mitocondriale, ma che è trasmessa come un carattere mendeliano autosomico dominante. È stato proposto che il gene nucleare alterato sia un gene codificante per una delle proteine che regolano la replicazione del DNA mitocondriale.

**Aspetti clinici generali delle mitocondriopatie**

In generale le malattie mitocondriali presentano una sintomatologia che dipende dall'interessamento, nell'ordine, del S.N.C., del muscolo scheletrico, del cuore, dei reni e del fegato. Tale gerarchia dipende dalla diversa richiesta di metabolismo mitocondriale nei vari tessuti.

Se la malattia compare nei primi mesi di vita, si può verificare un ritardo nello sviluppo psicomotorio con compromissione della crescita dell'encefalo e conseguente microcefalia. Se la sintomatologia compare in età adulta, si può determinare demenza.

La sintomatologia, per quanto riguarda il sistema nervoso, è, prevalentemente, di tipo motorio (incoordinazione, ipotonia, alterazione dei riflessi con Babinski positivo, ptosi e oftalmoplegia) e di quello sensoriale (vista ed udito). Per quanto riguarda l'apparato visivo, si hanno atrofia ottica e degenerazione pigmentaria della retina. A carico della muscolatura scheletrica, si hanno atrofia e debolezza muscolare, mentre per quanto riguarda il cuore si ha una cardiomiopatia con possibili alterazioni della conduzione e frequenti alterazioni del ritmo fino al blocco completo. Il coinvolgimento renale porta ad alterazioni tubulari.

Se la malattia compare precocemente ed è multisistemica, si ha frequentemente un rallentamento della crescita corporea con esito in bassa statura.

Il quadro ematochimico più frequente nelle malattie mitocondriali è rappresentato dalla acidosi lattica con aumento anche dell'ac. piruvico e dell'alanina. Tali composti aumentano anche nelle urine e nel liquido cefalorachidiano. Nelle forme da alterazione della catena respiratoria mitocondriale, il rapporto lattato/piruvato è di solito molto elevato. Nel caso di acidosi tubulare renale si hanno anche aminoaciduria generalizzata, glicosuria e fosfaturia.

Dal punto di vista istopatologico, una alterazione caratteristica del muscolo scheletrico, soprattutto nelle malattie da alterazioni della catena respiratoria, è la presenza delle *ragged red fibers*, letteralmente fibre rosse sfilacciate (v. sotto). Al microscopio elettronico, i m. presentano variazioni nelle dimensioni, alterazione strutturali della membrana interna con aumento o diminuzione delle creste, presenza di precipitati ed inclusioni paracristalline. Tuttavia non tutte le forme di patologia mitocondriale sono accompagnate da alterazioni morfologiche. Ad es. nella deficenza di carnitina-palmitil transferasi non si evidenziano alterazioni morfologiche apprezzabili.

La recente introduzione nella pratica clinica della risonanza magnetica nucleare (RMN) e della tomografia a emissione di positroni (PET), permette lo studio non invasivo delle alterazioni del S.N.C. È stato visto che le alterazioni cerebrali possono essere diffuse o localizzate; sono particolarmente colpiti i gangli basali, come il *putamen*, il nucleo caudato e pallido. Può esistere una certa selettività delle aree cerebrali colpite; ad es., nella MELAS (*Mitochondrial myopathy, Encephalomyopathy, Lactic Acidosis, Stroke-like episodes*, v. sotto) di solito è colpita la corteccia cerebrale posteriore, mentre nella sindrome di Leigh sono interessati i nuclei della base, il tronco cerebrale ed il cervelletto.

**Sindromi specifiche**

*Sindrome di Leigh o encefalomielopatia necrotizzante subacuta*

Questa malattia è stata descritta per la prima volta da

Leigh nel 1951. È una malattia con eredità autosomica recessiva, che si manifesta di solito in età pediatrica. Le aree più colpite sono quelle del tronco cerebrale con alterazioni a carico dei nervi cranici, ipotonia e alterazioni respiratorie. È marcata l'acidosi lattica. Nel 30-40% dei pazienti sono state trovate alterazioni specifiche della citocromo-ossidasi o della piruvato-deidrogenasi. In altri pazienti sono stati riscontrati difetti della NADH-coenzima Q-reduttasi.

*Sindrome di Alpers o poliodistrofia infantile progressiva*

È una malattia neurodegenerativa progressiva dell'età pediatrica con convulsioni epilettiformi gravi e acidosi lattica. Alcune lesioni del sistema nervoso possono essere messe in relazione a fenomeni ischemici associati allo stato epilettico. Certe lesioni sottocorticali sono simili a quelle riscontrate nella sindrome di Leigh. Un elemento distintivo rispetto a quest'ultima sarebbe rappresentato, secondo alcuni, dalla epatopatia. Dal punto di vista biochimico, sono state associate alla malattia varie alterazioni della catena respiratoria mitocondriale.

*Sindrome di Kearns-Sayre*

È una malattia multisistemica dominata da alterazioni muscolari e da una oftalmoplegia esterna progressiva (v. KEARNS-SAYRE, SINDROME DI*; MUSCOLO*).

*Epilessia mioclonica con «ragged red fibers» (MERRF: Mioclonic Epilepsy with Ragged Red Fibers)*

Descritta inizialmente da Fukuhara, è una malattia caratterizzata da mioclono, epilessia e *ragged red fibers*. Altri sintomi sono acidosi lattica, debolezza muscolare, atassia, demenza, sordità neurosensoriale e bassa statura. È una tipica malattia ad eredità materna ed è stato dimostrato che, nella maggioranza dei casi, è dovuta ad una mutazione puntiforme (transizione A-G) nel gene per il $tRNA^{Lys}$.

*Miopatia mitocondriale, encefalopatia, acidosi lattica ed episodi apoplettici (MELAS)*

Tale miopatia mitocondriale (MELAS: *Mitochondrial myopathy, Encephalomyopathy, Lactic Acidosis, Stroke-like episodes*) si manifesta con gravi attacchi ricorrenti di cefalea e vomito (simil emicranici), alterazioni cerebrali locali con emiparesi ed emianopsia, che simulano un infarto, debolezza muscolare soprattutto agli arti inferiori e acidosi lattica. Sono presenti inoltre convulsioni, demenza, cecità, sordità, bassa statura. Le lesioni cerebrali sono rappresentate da quadri di encefalomalacia con proliferazione vascolare e calcificazione dei gangli basali. La patogenesi delle lesioni sembra essere attribuibile ad alterazioni del flusso ematico delle arteriole. Come in altre malattie mitocondriali, sono state descritte alterazioni con accumulo di m. nelle cellule endoteliali e muscolari lisce dei piccoli vasi arteriosi. La biopsia muscolare mostra *ragged red fibers*. La lesione genetica consiste in una mutazione puntiforme del DNA mitocondriale (transizione A-G) nel gene del $tRNA^{Leu}$.

*Malattia di Leber*

È una neuropatia ereditaria del nervo ottico determinata da alterazioni del DNA mitocondriale (v. LEBER, SINDROME DI*).

**Classificazione biochimica delle mitocondriopatie**

I difetti genetici mitocondriali possono essere classificati sulla base delle alterazioni delle singole reazioni biochimiche interessate. Va tenuto conto, tuttavia, che un difetto primitivo può essere accompagnato da alterazioni secondarie di altri peptidi e, questo, è più frequente nei complessi eteropolimerici. È noto infatti che il catabolismo di una subunità di un complesso aumenta qualora il suo assemblaggio nel complesso è inibito per alterazioni di una o altre subunità costituenti lo stesso complesso. Infine, possono essere interessati molti complessi della catena respiratoria mitocondriale nel caso in cui l'alterazione genetica comporti un difetto della traduzione del DNA mitocondriale *in toto*, come avviene in caso di MERRF, MELAS e nella sindrome di Kearns-Sayre.

Si possono distinguere sei classi di difetti genetici mitocondriali:

1) difetti del trasporto dei substrati;
2) difetti di utilizzazione dei substrati;
3) difetti del ciclo di Krebs;
4) difetti della fosforilazione ossidativa;
5) difetti della catena respiratoria;
6) difetti di cicli metabolici non legati al meccanismo di produzione di energia.

*Difetti del trasporto mitocondriale*

La membrana mitocondriale contiene una serie di trasportatori specifici per i vari substrati (piruvato, acidi grassi e aminoacidi), nucleotidi (ATP, ADP) e coenzimi. Sono difetti non ancora ben caratterizzati se non per tre malattie: la *malattia di Luft* (v. MUSCOLO*, *miopatie mitocondriali*), la *deficienza di carnitina-palmitil-transferasi* (v. MUSCOLO*, *miopatie mitocondriali*) e la malattia da alterato trasporto di FAD. È questa una malattia caratterizzata da alterata ossidazione degli acidi grassi, sensibile alla somministrazione di riboflavina. Dal momento che il FAD è un coenzima delle acilCoA-deidrogenasi, dal punto di vista clinico la malattia è simile a quelle causate dal difetto delle acil-CoA-deidrogenasi.

*Difetti di utilizzazione del substrato*

1. *Alterazioni del metabolismo degli acidi grassi*. – Esistono varie mitocondriopatie dovute sia a difetti di una delle tre deidrogenasi degli acilCoA (a lunga, media e corta catena) che dei due trasportatori che ossidano il FADH e donano gli elettroni al coenzima Q (ETF ed ETF-DH). La sintomatologia è caratterizzata da intolleranza al digiuno, vomito ricorrente, ipoglicemia e ipochetonemia durante le crisi, debolezza muscolare. I sintomi sono dovuti al fatto che, in condizioni di ipoglicemia, non può verificarsi nel tessuto nervoso l'aumento compensatorio dell'ossidazione degli acidi grassi e di produzione dei corpi chetonici. Si può verificare un aumento dell'ω-ossidazione degli acidi grassi nella frazione microsomale con conseguente aumento di produzione e di escrezione urinaria di acidi dicarbossilici, segno patognomonico di tali malattie.

2. *Alterazioni del metabolismo del piruvato*. – Due sono le forme principali di malattia dovute ad un alterato metabolismo del piruvato: la deficienza di piruvato-deidrogenasi (PDHC) e della piruvato-carbossilasi (PC). La piruvato-deidrogenasi è un complesso di 5 subunità (tre catalitiche e due regolative), che catalizza la conversione del piruvato ad acetilCoA e $CO_2$. La sintomatologia clinica è caratterizzata da acidosi lattica, difficoltà di crescita corporea, atassia, ritardo dello sviluppo psicomotorio, atrofia ottica, ipotonia generalizzata e morte entro i primi anni. Tuttavia la gravità della malattia è correlata con il livello dell'attività enzimatica residua. La deficienza di PDHC è stata associata alla sindrome di Leigh (v. sopra).

La piruvato-carbossilasi catalizza la conversione di piruvato ad ossalacetato. Esiste una forma dell'enzima nei m. ed una nel citoplasma. Esistono condizioni in cui la pro-





Digitized by Google

teina è del tutto assente e sono di solito le forme più gravi, che si manifestano più precocemente, già nel neonato, con mancato accrescimento corporeo, varie alterazioni neurologiche, convulsioni, marcata acidosi metabolica con elevato tasso ematico di ac. lattico e ac. β-idrossibutirrico. Sono presenti anche iperammoniemia, citrullinemia, iperlisinemia e diminuzione dei livelli di aspartato. Nelle forme in cui è presente la proteina enzimatica, la sintomatologia clinico-metabolica è di solito meno grave. Tuttavia i pazienti presentano una elevata morbilità e mortalità nel periodo neonatale e nell'infanzia.

*Difetti del ciclo di Krebs*

Sono malattie estremamente rare. È stata identificata una forma clinica da *deficienza di fumarasi*, l'enzima che converte il fumarato a malato. Il quadro clinico è quello di una poliodistrofia infantile progressiva, con ritardo dello sviluppo, microcefalia, atrofia cerebrale ed ipotonia. Nel sangue si mette in evidenza una moderata acidosi lattica e, nelle urine, grandi quantità di ac. fumarico, succinico e citrico. Un'altra forma morbosa è la *deficienza di α-cheto glutarato-deidrogenasi*, che è caratterizzata da segni piramidali ed extrapiramidali, moderata acidosi lattica ed elevata escrezione urinaria di ac. α-chetoglutarico.

*Difetti della catena respiratoria*

Esistono numerosi difetti che coinvolgono i vari complessi della catena respiratoria e nella maggior parte dei casi essi danno luogo a due forme cliniche: una forma in cui predomina l'interessamento muscolare scheletrico (v. MUSCOLO*, *miopatie mitocondriali*) ed una forma encefalomiopatica in cui prevale l'interessamento del S.N.C. rispetto alle alterazioni muscolari.

1. *Alterazioni del complesso I: NADH-coenzima Q reduttasi.* – Nei due terzi dei casi le deficienze di enzimi del complesso I si manifestano come una sindrome encefalomiopatica. In alcuni casi la sintomatologia è molto grave con acidosi lattica congenita, convulsioni, ipotonia ed insufficienza respiratoria. La morte avviene di solito entro i primi mesi di vita. In altri pazienti l'insorgenza è più tardiva. La malattia si manifesta con intolleranza all'esercizio muscolare, debolezza, oftalmoparesi esterna progressiva, degenerazione pigmentaria della retina, atrofia ottica, sordità neurosensoriale, demenza, atonia e segni piramidali. La maggior parte dei pazienti presenta una sintomatologia di tipo MELAS, altri possono presentarne una tipo poliodistrofia infantile progressiva (sindrome di Alpers) ed altri, infine, una encefalomiopatia subacuta necrotizzante di Leigh.

2. *Alterazioni del complesso II: succinato citocromo c reduttasi.* – Non ci sono ancora risultati convincenti circa la esistenza di alterazioni ereditarie di questo complesso.

3. *Alterazioni del complesso III: coenzima Q-citocromo c reduttasi.* – Queste malattie possono manifestarsi come una forma miopatica, o una forma cardiomiopatica o una forma multisistemica. Possono comparire nell'infanzia o nell'adolescenza. La forma multisistemica è caratterizzata da degenerazione pigmentaria della retina, sordità neurosensoriale, atassia cerebellare, segni piramidali, demenza e intolleranza all'esercizio muscolare.

4. *Alterazioni del complesso IV: citocromossidasi.* – Anche in questo caso esistono forme prevalentemente miopatiche (maligna e benigna; v. MUSCOLO*, *miopatie mitocondriali*), forme cardiomiopatiche ed una forma encefalomiopatica. Di queste ultime, le forme più frequenti sono la encefalomiopatia necrotizzante subacuta (sindrome di Leigh), la sindrome di Alpers e la MERRF. In quest'ultima sindrome è stata riportata l'esistenza di un'alterazione cinetica della subunità II della citocromossidasi. Difetti parziali di citocromossidasi sono stati riportati in pazienti con sindromi tipo miopatia oculare pura e Kearns-Sayre. Un deficit parziale di citocromossidasi si verifica nella sindrome di Menkes, la tricopoliodistrofia da carenza di rame (v. sopra).

5. *Alterazioni del complesso V: Fo-F1 ATP-sintetasi.* – Sono stati descritti due pazienti con possibili difetti di questo complesso. Un paziente dimostrava una sintomatologia prevalentemente muscolare e l'altro una sintomatologia encefalomiopatica, caratterizzata da neuropatia periferica, retinopatia, atassia, demenza e debolezza muscolare.

*Difetti di vie metaboliche mitocondriali non coinvolte nel sistema di conservazione dell'energia*

1. *Difetti del ciclo dell'urea.* – Nella matrice mitocondriale sono presenti gli enzimi che catalizzano le prime due reazioni per la sintesi di urea: la carbamilfosfato-sintetasi e l'ornitin-carbamil-transferasi. La sintomatologia nella carenza di ciascuno dei due enzimi è simile. Malgrado tali attività siano espresse solo nei m. epatici, la sintomatologia è a carico, soprattutto, del S.N.C. che è estremamente sensibile agli effetti tossici dello ione ammonio. I sintomi sono: episodi acuti di iperammoniemia, accompagnati da vomito, irritabilità e sonnolenza, seguiti da letargia, convulsioni e coma. Può essere presente anche un grave ritardo psicomotorio.

La carenza di carbamilfosfato-sintetasi può manifestarsi molto precocemente, nel periodo neonatale, come una grave sindrome neurologica aggravata dall'alimentazione proteica. I bambini muoiono di solito entro il primo anno di vita. Una seconda forma compare più tardivamente ed è caratterizzata da ritardo mentale. La deficienza di ornitin-carbamil-transferasi è trasmessa con una ereditarietà legata al sesso (il gene è stato localizzato sul braccio corto del cromosoma X, banda Xp21.1, vicino al gene per la distrofia di Duchenne).

2. *Difetti del metabolismo dell'acido propionico e della utilizzazione dei corpi chetonici.* – Nel primo caso i pazienti soffrono di episodi ricorrenti di chetoacidosi con gravi manifestazioni neurologiche. Il blocco di una tappa metabolica comporta l'accumulo del substrato a monte che viene escreto in grande quantità nelle urine, come ad es. l'aciduria metil-malonica dovuta al difetto di metil-malonil-CoA-mutasi. Nel secondo caso la sintomatologia è caratterizzata da acidosi metabolica insorgente nei primi mesi di vita e coinvolgimento variabile del S.N.C.

**Bibliografia**


Cooper J. M. *et al.*, *Biochem. Soc. Trans.*, 1990, **18**, 517.

Di Mauro S. *et al.*, in Roland L. P. *et al.* eds., *Molecular Genetics in Diseases of Brain, Nerve & Muscle*, 1989, Oxford University Press, New York, p. 285.

Di Mauro S. *et al.*, in Sato T., Di Mauro S. eds., *Mitochondrial Encephalomyopathies: Problems of Classification*, 1991, Raven Press, New York, pp. 113-128.

Goto Y. *et al.*, *Nature*, 1990, **348**, 651.

Hartl F. U., Neupert W., *Science*, 1990, **247**, 930.

Morgan-Hughes J. A., *The Mitochondrial Myopathies*, in Engel A. G., Banker B. Q. eds., *Myology*, 1986, McGraw-Hill, New York.

Schon E. A. *et al.*, *Science*, 1989, **244**, 346.

Shoffner J. M. *et al.*, *Cell*, 1990, **61**, 931.

Shoffner J. M., Wallace D. C., *Adv. Hum. Genet.*, 1990, **19**, 267.

Zeviani M. *et al.*, *Nature*, 1989, **339**, 309.

Zeviani M., Bonilla E., DeVivo D. C., Di Mauro S., *Le malattie mitocondriali*, in Johnson W. G. ed., *Neurologic Clinics*, 1989, 1, McGraw-Hill, Libri Italia, Milano, 139-175.


GIOVANNI SALVIATI





Digitized by Google

## MK-801

Il composto MK-801 (dizocilpina) appartiene alla classe chimica delle dibenzocicloalchenimine, essendo il maleato acido della (+)-5-metil-10,11-diidro-5H-dibenzocicloepten-5,10-imina.

L'interesse per questo composto è stato inizialmente sollevato dalla peculiare caratteristica di associare una potente azione anticonvulsivante, una apparente attività ansiolitica ed effetti simpaticomimetici centrali. Le susseguenti indagini sul meccanismo d'azione dell'MK-801 ne hanno dimostrato le proprietà di potente antagonista non competitivo dei recettori per l'ac. glutammico attivati dall'N-metil-D-aspartato (NMDA) (v. NEUROTRASMETTITORI*, NEUROTOSSINE*). Questa proprietà ha reso il composto MK-801 uno strumento di grande utilità nello studio della fisiopatologia del sistema neuroeccitatorio glutammergico.

Tra gli effetti farmacologici dell'MK-801 un particolare interesse ha suscitato la capacità di impedire all'animale sperimentale la ritenzione di nuove informazioni, con particolare riguardo a quelle concernenti l'orientamento spaziale (Wozniak *et al.*, 1990; McLamb *et al.*, 1990). Questo effetto potrebbe essere in accordo con l'ipotesi che l'attivazione dei recettori per l'NMDA è implicata nei processi di memorizzazione, attraverso un rimodellamento persistente della trasmissione transinaptica, in particolare a livello ippocampale. Come è noto, questo fenomeno, che prende il nome di *long-term potentiation*, consiste in un incremento dell'ampiezza di potenziali eccitatori postsinaptici ed è prodotto da stimoli brevissimi (inferiori ad un sec), ma ad alta frequenza (Brown *et al.*, 1988). È importante osservare che diversi bloccanti non competitivi del recettore per l'NMDA sono capaci di inibire la *long-term potentiation* ippocampale.

Come ampiamente discusso in altre voci del presente volume (v. NEUROTRASMETTITORI*; NEUROTOSSINE*), una prolungata attivazione del sistema glutammergico costituirebbe un momento patogeneticamente cruciale nello sviluppo di lesioni neuronali a diversa etiologia. Tra queste sono da citare l'esposizione a tossine, l'ischemia e l'ipoglicemia, i traumi e alcuni dismetabolismi geneticamente determinati. In condizioni sperimentali, il composto MK-801 si è dimostrato capace di ridurre le lesioni indotte da convulsioni, ipoglicemia, ipossia, ischemia, traumi ed esposizione ad alte pressioni atmosferiche, suggerendo un ruolo dell'attivazione dei recettori per l'NMDA nella patogenesi di queste lesioni (Olney, 1990; Pearce *et al.*, 1990).

Il fatto che in alcune tossicodipendenze la sintomatologia astinenziale sia caratterizzata dalla disinibizione di fenomeni eccitatori ha indotto ad esplorare con cura il ruolo svolto dal glutammato e, di nuovo, il composto MK-801 si è dimostrato uno strumento prezioso. Nel caso dell'alcol, vi è consenso nel ritenere che il suo effetto acuto produca una inibizione della funzione del recettore per l'NMDA e del canale ionico ad esso associato; inoltre, l'esposizione cronica provocherebbe una inibizione della *long-term potentiation* ippocampale e, ad un tempo, una sovraregolazione dei siti di legame per l'MK-801 nell'ippocampo. È stato così suggerito che una iperfunzionalità dei recettori per l'NMDA sia coinvolta nel *delirium tremens* (Glue e Nutt, 1990). In effetti, l'MK-801 è particolarmente potente e selettivo nell'inibire le convulsioni associate all'astinenza da alcol nel ratto (Morrisett *et al.*, 1990), così come protegge la stessa specie dalle lesioni neurologiche prodotte dalla dieta carente di tiamina, un modello, com'è noto, di sindrome di Wernicke-Korsakoff (Olney, 1990).

Un recente studio condotto nel ratto (Trujillo e Akil, 1991) suggerisce che l'MK-801 è anche capace di sopprimere la sindrome d'astinenza da morfina e lo sviluppo della tolleranza ai suoi effetti analgesici. Al contrario, l'MK-801 non interferirebbe con l'azione analgesica che la somministrazione acuta di morfina produce.

Più complessa è l'interazione dell'MK-801 con gli stimolanti psicomotori. Come precedentemente osservato, l'MK-801 produce alcuni effetti farmacologici che potrebbero far pensare ad un meccanismo d'azione simpaticomimetico. Tra questi effetti sono da annoverare l'ipertensione e la tachicardia, definite come il risultato di una attivazione simpatica centrale (Lewis *et al.*, 1989), e la rotazione ipsilaterale da lesione delle vie nigrostriatali dopaminergiche, un effetto quest'ultimo tipicamente indotto dalle anfetamine attraverso la liberazione di dopamina (Clineschmidt, 1982). Inoltre, a basse dosi l'MK-801 produce modificazioni elettroencefalografiche del tutto simili a quelle indotte dalla L-DOPA (Dimpfel e Spuler, 1990). È tuttavia improbabile che l'MK-801 abbia un meccanismo d'azione anfetamino-simile poiché recenti studi, condotti sia *in vitro* che *in vivo*, hanno evidenziato una azione inibitoria dell'MK-801 sulla liberazione di dopamina (Kashihara *et al.*, 1990; Mount *et al.*, 1990). Studi comportamentali mostrano inoltre che, contrariamente a quanto avviene con gli antagonisti del recettore per il quisqualato (che, come noto, attiva un diverso recettore glutammergico) l'MK-801, a dosaggi privi di effetti aspecifici, non interferisce con l'attivazione della locomozione prodotta dall'anfetamina (Freed e Cannon-Spoor, 1990). Al contrario, l'MK-801 si è dimostrato altamente efficace nel prevenire la neurotossicità da metanfetamina (v. NEUROTOSSINE*). Esso infatti antagonizza la caduta dei livelli di dopamina e di tirosinaidrossilasi prodotta nelle vie nigrostriatali del ratto dalla somministrazione di alte dosi di metanfetamina (Sonsalla *et al.*, 1989).

Parimenti antagonizzata è la perdita, indotta dalla metanfetamina, di recettori di tipo 1 e II per i corticosteroidi localizzati nell'ippocampo e nello striato (Lowy, 1990).

Il possibile impiego clinico dell'MK-801 sembra focalizzarsi sulle proprietà anticonvulsivanti, su quelle protettive verso processi neurodegenerativi e come adiuvante nella terapia del morbo di Parkinson. Tuttavia, un notevole ostacolo ad una sua introduzione in terapia è costituito dalle analogie che l'MK-801 ha con gli agonisti dei recettori oppiacei di tipo sigma, inclusa la fenciclidina. Nella scimmia, ad es., l'MK-801 condivide le proprietà stimolo-discriminative e di rinforzo positivo della fenciclidina (Koek *et al.*, 1988); simili sono anche gli effetti motori ed il tipo di anestesia indotto dai due farmaci (Koek *et al.*, 1988). L'MK-801 produce infine effetti sul metabolismo cerebrale analoghi a quelli della fenciclidina (Piercey *et al.*, 1988). La possibilità che nell'uomo l'MK-801 produca effetti psicotomimetici ha quindi ridotto le probabilità di una sua introduzione in terapia, ma non ha certo frustrato la speranza che un suo più selettivo derivato possa approdare alla clinica.

**Bibliografia**

Brown T. H., Chapman P. F. *et al.*, *Science*, 1988, **242**, 724.
Clineschmidt B. V., Martin G. E., *Drug Dev. Res.*, 1982, **2**, 135.
Dimpfel W., Spuler M., *Psychopharmacology*, 1990, **101**, 317.
Freed W. J., Cannon-Spoor H. E., *Psychopharmacology*, 1990, **101**, 456.

Digitized by Google

Glue P., Nutt D., *Br. J. Psych.*, 1990, **157**, 491.
Kashihara K., Hamamura T. *et al.*, *Brain Res.*, 1990, **528**, 80.
Koek W., Woods J. H. *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1988, **245**, 969.
Lewis S. J., Barres C. *et al.*, *Hypertension*, 1989, **13**, 759.
Lowy M. T., *Brain Res.*, 1990, **533**, 348.
McLamb R. L., Williams L. R. *et al.*, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1990, **37**, 41.
Morrisett R. A., Rezvani A. H. *et al.*, *Eur. J. Pharmacol.*, 1990, **176**, 103.
Mount H., Quiron R. *et al.*, *J. Neurochem.*, 1990, **55**, 268.
Olney J. W., *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 1990, **30**, 47.
Pearce P. C., Dorè C. J. *et al.*, *Neuropharmacology*, 1990, **29**, 931.
Piercey M. F., Hoffmann W. E. *et al.*, *Psychopharmacology*, 1988, **96**, 561.
Sonsalla P. K., Nicklas W. J. *et al.*, *Science*, 1989, **243**, 398.
Trujillo K. A. e Akil H., *Science*, 1991, **251**, 85.
Wozniak D. F., Olney J. W. *et al.*, *Psychopharmacology*, 1990, **101**, 47.

PAOLO NENCINI

## MOBILUNCUS GENERE

Il genere *Mobiluncus* è stato recentemente proposto per includervi batteri simil-vibrionici che non erano assimilabili ad altri generi noti. L'interesse per questo genere di nuova definizione risiede nel fatto che esso raggruppa ceppi batterici isolati da secrezioni vaginali di donne con vaginite da anaerobi, definita più comunemente *vaginosi batterica*. La sindrome vaginale ad essi associata è caratterizzata da almeno tre dei seguenti reperti: *a*) secrezione omogenea e sottile, che spesso aderisce alle pareti della vagina e può formare bolle; *b*) pH vaginale superiore a 4,5; *c*) caratteristico odore di pesce delle secrezioni vaginali eventualmente esaltato dal trattamento delle secrezioni stesse con una soluzione al 10% di idrossido di potassio; *d*) reperto microscopico di *clue cells*, ovvero cellule epiteliali rivestite da miriadi di batteri.

Il g. *M.* è costituito da batteri anaerobi, curvi, mobili, gramvariabili e non sporigeni. La presenza di batteri mobili e ricurvi negli strisci vaginali era stata documentata già nel 1895 da Kronig, ma l'associazione di tale reperto con la vaginosi si è avuta solo nel 1980 ad opera di Durieux e Dublanchet. Da allora si sono avute numerose segnalazioni di isolamento di batteri assimilabili al g. *M.* in percentuali variabili dal 14 al 50% delle secrezioni vaginali di donne con vaginosi e da circa il 5% di donne asintomatiche.

Attualmente si ritiene che il g. *M.* comprenda almeno due specie distinte, identificate dalla morfologia cellulare, dalla colorazione al Gram, dall'attività biochimica e dalla suscettibilità al metronidazolo, *M. curtisii* e *M. mulieris*. I batteri dei ceppi di *M. curtisii* sono piccoli (lunghezza 1,7 μm), gramvariabili e relativamente più resistenti al metronidazolo. A sua volta, questa specie, presenta due sottospecie, *M. curtisii* subspecie *curtisii* e *M. holmesii*, differenziabili tra loro per la migrazione in agar, osservabile nella prima, ma non nella seconda, e dal fatto che il *M. curtisii*, subspecie *curtisii* è nitrato-negativo mentre la subspecie *holmesii* è nitrato-positiva. I ceppi di *M. mulieris* sono più lunghi (2,9 μm), gramnegativi e meno resistenti al metronidazolo rispetto a *M. curtisii*.

La tassonomia del g. *M.* è comunque ancora in via di definizione. Numerosi studi sono in corso per definirne l'importanza in patologia umana e per stabilirne la via di trasmissione.

### Bibliografia

Reese R. E., Douglas R. G., *A Practical Approach to Infectious Diseases*, 1986, Little Brown, Boston.
Spiegel C. A., Roberts M., *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1984, **34**, 177.
Spiegel C. A. *et al.*, *J. Infect. Dis.*, 1983, **148**, 817.
Thomason J. L. *et al.*, *J. Infect. Dis.*, 1984, **149**, 801.

ANTONIO VOLPI E AGATA SALANITRO

## MONOCLONALI ANTICORPI [v. vol. IX, col. 1870]

SOMMARIO



### Premessa

L'introduzione della tecnologia degli ibridomi per la produzione degli anticorpi monoclonali (a. m.), descritta nel 1975 da Kolher e Milstein, che per questa scoperta sono stati insigniti del premio Nobel per la medicina nel 1984, ha rivoluzionato l'immunologia, la biologia molecolare, l'oncologia, le malattie infettive.

Gli a. m., per le loro peculiari caratteristiche (omogeneità, specificità, possibilità di essere prodotti in quantità illimitata) hanno progressivamente sostituito gli antisieri policlonali, di cavallo o di coniglio, nella sierologia clinica ed a. m. marcati con isotopi radioattivi o legati a sostanze fluorescenti o ad enzimi costituiscono reagenti routinariamente impiegati nella diagnostica di laboratorio. Grazie alla loro capacità di discriminare tra molecole antigenicamente correlate, uno dei campi in cui questi reagenti trovano larghissimo impiego è quello della definizione degli antigeni di differenziazione delle cellule del sistema immunitario (cosiddetti *CD antigens*; v. anche CITOFLUORIMETRIA*) la cui identificazione ha permesso di chiarire l'ontogenesi e le caratteristiche funzionali delle popolazioni linfocitarie e il significato di eventuali squilibri tra diverse popolazioni nella patogenesi e nel decorso di diverse condizioni patologiche (ad es., AIDS, malattie autoimmuni), nonché una più accurata e veloce distinzione di alcuni quadri neoplastici relativi a questo tipo di cellule (ad es., tipizzazione di leucemie e linfomi). In campo oncologico, l'impiego di reagenti monoclonali è risultato utilissimo per l'identificazione morfologica di quadri altamente anaplastici ed ha aperto prospettive di diagnosi e di terapia *in vivo* ed *ex vivo*. In particolare, una dimostrazione delle enormi possibilità di a. m. è il loro attuale impiego nell'autotrapianto di midollo osseo per il trattamento di alcune leucemie, attraverso il cosiddetto *purging in vitro*, cioè la eliminazione selettiva delle cellule tumorali prima della reinfusione (v. MIDOLLO OSSEO*, *trapianto*).

Per quanto riguarda la terapia *in vivo*, tuttavia, la somministrazione ripetuta di anticorpi murini o di altra specie può creare problemi legati al riconoscimento di tali anticorpi come molecole estranee (fenomeno che porta alla loro eliminazione dal circolo prima che sia raggiunto il bersaglio). Per ovviare a questi problemi sono stati messi a punto sistemi che consentono di migliorare i metodi di produzione di a. m. umani o che permettono di «ingegnerizzare» molecole con le caratteristiche desiderate e il più possibile simili a quelle umane (v. sotto).

### Sviluppi tecnologici per la produzione di ibridomi

A tutt'oggi non sono state apportate sostanziali modifiche alla tecnica per produrre ibridomi originariamente descritta (v. MONOCLONALI ANTICORPI, IX, 1871). Per quanto riguarda la procedura di fusione, un metodo relativamente recente è quello della elettrofusione, cioè l'applicazione di gradienti elettrici ad alto voltaggio al posto della incubazione con il polietilenglicole (PEG). Questo metodo permette la fusione anche di un piccolo numero di cellule e risulta quindi vantaggioso sia per la produzione di a. m. umani, sia nei casi in cui sia necessario operare una selezione delle cellule





Digitized by Google

anticorpo-produttrici prima della fusione. L'identificazione dei fattori di crescita solubili che favoriscono la crescita degli ibridomi, ha inoltre permesso di rendere meno laboriosa la produzione di a. m. e di incrementare l'efficienza di produzione di ibridomi funzionali.

**Produzione di anticorpi monoclonali umani**

Un problema che limita la produzione di a. m. umani è la difficoltà di ottenere un numero sufficiente di cellule B che secernano anticorpi con la specificità desiderata, non essendo gli organi più appropriati, quali la milza, i linfonodi, le tonsille, il midollo osseo, facilmente raggiungibili e non essendo possibile per molti antigeni operare una immunizzazione attiva nell'uomo. La sorgente di più facile accesso è tuttora costituita dal sangue periferico; tuttavia la percentuale di ibridi che si ottiene quando vengono utilizzati linfociti di sangue periferico è molto più bassa di quella che si ottiene quando vengono utilizzati tessuti solidi (tale frequenza riflette la bassa percentuale di linfociti B specifici circolanti, la maggior parte dei quali si trova in una fase di quiescenza del ciclo cellulare).

Anche in quei casi in cui è stato possibile operare una immunizzazione *in vivo* (ad es. con l'anatossina tetanica, la proteina della pertosse, etc.) la frequenza di ibridomi che producevano anticorpi è risultata molto bassa e con prevalente produzione di anticorpi di classe IgM. Per aumentare tale frequenza è possibile operare un arricchimento iniziale delle cellule anticorpo-produttrici con specificità desiderata prima della fusione, per es. selezionando le cellule mediante *panning* con antigene (Winger *et al.*, 1983), mediante rosettaggio con globuli rossi ricoperti con antigene (Doyle *et al.*, 1985), o mediante citofluorimetria, dopo aver fatto reagire le cellule con antigene marcato con cromogeni fluorescenti (Casali *et al.*, 1986).

Un'altra possibilità è quella di utilizzare, sulle cellule umane, tecniche di immunizzazione *in vitro*. Il protocollo (Borrebaeck *et al.*, 1988) è basato sul trattamento dei linfociti di sangue periferico prima della immunizzazione *in vitro* con l'estere metilico della leucina che rimuove una popolazione di cellule ricca di lisosomi (comprendente monociti e macrofagi, i linfociti T citotossici ed una frazione di linfociti CD8+ ad attività soppressoria) e sulla coltivazione delle cellule così purificate per 6-7 giorni, in presenza di quantità di antigene comprese tra 200 e 1000 ng/ml e di opportune linfochine come l'interleuchina 2, il gamma interferone e fattori di crescita e differenziazione delle cellule B. Altri AA. hanno utilizzato l'attivazione con mitogeni in sinergia con l'antigene (Olsson *et al.*, 1984; Masuho *et al.*, 1986).

Un altro problema che ha notevolmente ostacolato la produzione di ibridomi umani è quello della scarsità di linee di mielomi umani che consentano un'efficienza paragonabile a quella del sistema murino. A questo scopo sono state utilizzate linee linfoblastoidi umane, tra cui quelle più comunemente in uso sono le linee non secernenti derivate dalle linee GM-1500 e WIL-2. Gli ibridomi derivati da fusioni di linfociti con queste linee secernono in genere piccole quantità di anticorpo, ma la produzione sembra piuttosto stabile nel tempo.

Molti ricercatori preferiscono impiegare linee non secernenti di mieloma murino, come la Sp2/0-Ag14 e la X63/Ag8.653; gli «eteroibridomi» uomo-topo che ne derivano crescono bene in coltura, si possono clonare con facilità, producono quantità rilevanti di anticorpi e possono essere indotti a crescere come tumori ascitici nei topi nudi (Tiebout *et al.*, 1985). Il prodotto che si ottiene è tuttavia caratterizzato da una notevole instabilità cromosomica, anche se operando clonaggi precoci e ripetuti sono stati ottenuti numerosi ibridi stabili nel tempo.

Una strategia alternativa è quella dell'«immortalizzazione» di linfociti umani da parte del virus di Epstein-Barr (v. EPSTEIN-BARR, VIRUS DI*). Questo herpesvirus infetta preferibilmente le cellule B umane, legandosi e penetrando nelle cellule attraverso il recettore per il complemento C3d. Purtroppo, le linee così derivate, cosiddette linfoblastoidi, producono quantità limitate di anticorpi, sono spesso instabili e presentano difficoltà di crescita in coltura. Tuttavia, con la combinazione di tecniche di trasformazione e di fusione è stato possibile aumentare drasticamente sia l'efficienza di formazione degli ibridi che ottenere ibridi maggiormente stabili nel tempo (Kudo *et al.*, 1988). Una descrizione dettagliata delle diverse strategie di immortalizzazione ed un esauriente elenco delle linee cellulari più frequentemente impiegate come «partner» tumorale di fusione si trovano nel testo edito da Engleman *et al.* nel 1985.

**Produzione di anticorpi monoclonali mediante tecniche di ingegneria genetica**

Le moderne tecniche di ingegneria genetica (v. CLONE E CLONAZIONE*; INGEGNERIA GENETICA*) hanno recentemente reso possibile la costruzione di anticorpi «chimerici», cioè di anticorpi costituiti da regioni variabili specifiche murine e da sequenze di regioni costanti umane: un complesso genetico ottenuto utilizzando metodiche di ricombinazione genica viene reintrodotto, grazie a opportuni vettori, in cellule linfoidi che sono in grado di esprimerlo e di produrre anticorpi (fig. 1). Questo approccio permette di produrre a. m. specifici per antigeni che non possono essere inoculati nell'uomo o che non sono in grado di dare origine ad una risposta adeguata *in vitro* o *in vivo*. Le immunoglobuline prodotte mediante queste tecniche mantengono la specificità dell'anticorpo originale (dal momento che con-

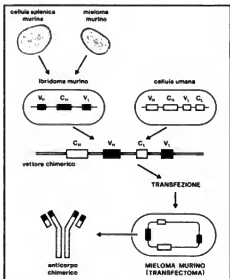



Fig. 1. Illustrazione schematica delle fasi di produzione di a. m. chimerici.

tengono le regioni comprendenti il sito combinatorio murino) ma sono meno immunogeniche nell'uomo, essendo in larga parte (regioni costanti) simili a quelle umane. Tuttavia, poiché gli anticorpi così formati contengono comunque reginni del topo che sono potenzialmente immunogene e possono limitare l'utilità di trattamenti ripetuti *in vivo*, è stata recentemente utilizzata una tecnica ancor più raffinata, che permette di ridurre ulteriormente la componente xenogenica degli anticorpi chimerici, trapiantando nelle regioni appropriate di un gene di un anticorpo umano, anziché l'intera regione variabile di un anticorpo di topo, solamente le sequenze ipervariabili corrispondenti al sito combinatorio per l'antigene (Jones *et al.*, 1986; Riechmann *et al.*, 1988). Con questa tecnica è possibile selezionare anticorpi con le caratteristiche isotipiche più opportune a raggiungere l'effetto desiderato *in vivo*, ad es. l'isotipo umano che presenta più alta attività nella lisi mediata dal complemento e nella ADCC (*antibody dependent cellular cytotoxicity*) rispetto ad altri isotipi. Per altre applicazinni, come per es. l'*imaging* tumorale con anticorpi radiomarcati, può essere particolarmente importante avere a disposizione un anticorpo con emivita breve, cioè di sottoclasse IgG3.

È possibile anche modificare l'affinità dell'anticorpo o l'espressione idiotipica operando delle mutazioni a livello del sito combinatorio (Sharon e Gefter, 1986) o integrare geni che codificano per enzimi, che vengono poi sintetizzati come parte integrante dell'anticorpo (Chandhary *et al.*, 1989). Inoltre, gli anticorpi chimerici possono anche essere utilizzati per derivare frammenti come Fab o F(ab')2 o anche frammenti di anticorpi a catena singola con le stesse caratteristiche di legame a livello del sito anticorpale dell'anticorpo da cui sono stati derivati. Questi frammenti, avendo dimensioni molecolari più piccole dell'anticorpo originale, possono penetrare più facilmente nei tessuti bersaglio e presentano quindi potenziali applicazioni nel campo della diagnosi e della terapia dei tumori (Skerra e Pluckthum, 1988).

Interessanti applicazioni potenziali per la diagnosi e il trattamento dei tumori hanno anche gli *anticorpi bispecifici*, che possono essere ottenuti sia mediante ingegneria genetica o, più semplicemente, operando una fusione tra due ibridomi che secernono a. m. con specificità differente,

Fig. 2. Rappresentazione schematica di possibili utilizzazioni degli a. m. nella diagnosi e terapia delle neoplasie.

o legando chimicamente due molecole anticorpali o parti da esse derivate. Gli anticorpi bispecifici hannn la capacità di riconoscere il bersaglio e di veicolare allo stesso tempo una sostanza effettrice, come un radioisotopo, una tossina, un farmaco citotossico, un immunomodulatore, o un *marker* enzimatico (Songsivilai e Lachman, 1990).

Recentemente sono stati descritti due approcci che potrebbero sostituire in un prossimo futurn le tradizionali tecniche di ibridazione. Huse *et al.* (1990) sonn riusciti a clonare in *Escherichia coli* un vasto numero di geni che codificano per le regioni variabili delle catene pesanti (VH) e delle catene leggere (VL) dell'anticorpo e a produrre in un breve periodo di tempo una grande varietà di frammenti Fab di immunoglobuline, che, sebbene siano espressi in una forma che è fisicamente differente da quella di un normale anticorpo, reagiscono con l'antigene in maniera specifica. Ward *et al.* (1989) hanno invece clonato in batteri un repertorio di geni per le catene pesanti. Gli anticorpi finora esaminati sono costituiti da un singolo *domain* immunoglobulinico della regione variabile e nonostante l'assenza delle catene leggere si legano al bersaglio con alta specificità. Queste molecole, che gli autori hanno denominato *single domain antibodies* hanno il vantaggio di essere più piccole di un anticorpo completo e potrebbero essere sfruttate per costruire molecole bispecifiche combinando *domains* VH con un repertorin di geni VL.

**Applicazioni degli anticorpi monoclonali umani**

Gli a. m. umani hanno già trovato impiego nel campo della diagnostica clinica dei gruppi sanguigni e nel campo delle trasfusioni di sangue. È già disponibile un reagente anti-Rh che viene prodotto commercialmente e sono stati prodotti numerosi a. m. anti-D e verso altre specificità Rh, in vista di una loro utilizzazione nella immunoterapia passiva per la prevenzione della malattia emolitica del neonato.

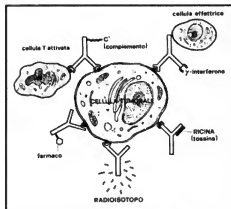
L'impiego di a. m. umani rivolti verso antigeni del sistema maggiore di istocompatibilità ha permesso di rivelare antigeni che non era possibile identificare con gli alloantisieri policlonali o i monoclonali murini.

Un'area di intensa ricerca è quella della produzione di a. m. diretti contro agenti infettivi, in particolare nei riguardi di agenti difficili da trattare con le terapie convenzionali, come nel caso delle sepsi da gramnegativi (Ziegler *et al.*, 1991), o di a. m. neutralizzanti nei confronti di agenti virali.

L'immunodiagnostica e l'immunoterapia dei tumori sono un altro campo molto promettente che si avvale delle esperienze già ottenute con gli a. m. di origine murina. In questo approccio, radioisotopi, tossine naturali, agenti chemioterapici o altre sostanze sono coniugati chimicamente ad un a. m. in modo da formare un «immunoconiugato» (v. IMMUNOTOSSINE*) utilizzabile *in vivo* (fig. 2).

Altri settori nei quali gli a. m. umani trovano potenziale applicazione sono i vaccini anti-idiotipici, la regolazione *in vivo* delle riposte immunitarie, la terapia delle malattie autoimmuni, la prevenzione del rigetto dei trapianti, la contraccezione.

**Bibliografia**

Borrebaeck C. A. K., Danielsson L., Moller S. A., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1988, **85**, 3995.
Casali P., Inghirami G. *et al.*, *Science*, 1986, **234**, 476.
Chandhary V. K., Queen C. *et al.*, *Nature*, 1989, 339, 394.
Doyle A., Joes T. J. *et al.*, *Hum. Immunol.*, 1985, **13**, 199.
Engleman *et al.* eds., *Human Hybridomas and Monoclonal Antibodies*, 1985, Plenum Press, New York.
Huse W. D., Sastry L. *et al.*, *Science*, 1990, **246**, 1275.
James K., Bell G. T., *J. Immunol. Meth.*, 1987, **100**, 5.
Jones P. T., Dear P. H. *et al.*, *Nature*, 1986, **321**, 522.
Kudo T., Asao A., Tachibana I., *J. Exp. Med.*, 1988, **154**, 345.
Masuho Y. *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1986, **135**, 495.
Olsson L., Andreasen R. B. *et al.*, *J. Exp. Med.*, 1984, **159**, 537.





Digitized by Google

Riechmann L., Clark M. *et al.*, *Nature*, 1988, **332**, 323.
Sharon J., Gefter M. L., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1986, **83**, 2628.
Skerra A., Pluckthun A., *Science*, 1988, **240**, 1038.
Songsivilai S., Lachman P., *J. Clin. Exp. Immunol.*, 1990, **79**, 315.
Tiebout R. F., Stricker E. A. M. *et al.*, *Scand. J. Immunol.*, 1985, **22**, 691.
Waldmann T. A., *Science*, 1991, **252**, 1657-1662.
Ward E. S., Gussow D. *et al.*, *Nature*, 1989, **341**, 544.
Winger L., Winger C. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1983, **80**, 4484.
Ziegler E. J., Fisher C. J., Sprung C. L. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1991, **324**, 429.

STEFANO VELLA E GABRIELLA GUARNOTTA

## MONONUCLEOSI INFETTIVA [v. vol. IX, col. 1877]

I progressi più rilevanti relativi a questa malattia infettiva sono legati principalmente alla migliore caratterizzazione dell'agente etiologico, il virus di Epstein-Barr (virus EB), per la trattazione del quale si rimanda alla specifica voce di questo aggiornamento (v. EPSTEIN-BARR, VIRUS DI*), nella quale sono anche trattati gli aspetti relativi alle infezioni croniche e persistenti da virus EB.

RED.

## MORAXELLA GENERE [v. vol. IX, col. 1888]

*Moraxella kingae* (Kingi) è stata trasferita nel nuovo genere *Kingella* (v. KINGELLA GENERE*).

**Bibliografia**

*Burgey's Manual of Systematic Bacteriology*, 1984, vol. 1, Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 307-308.
Henriksen S. D., Bøvre K., *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1976, **26**, 447.

RED.

## MORBILLO [v. vol. IX, col. 1889]

### Epidemiologia

Il morbillo è endemico nel mondo, se si eccettuano località isolate come la Groenlandia e alcune isole del Pacifico dove, peraltro, l'introduzione del virus ha dato e dà luogo a epidemie che coinvolgono la totalità della popolazione, eccetto eventualmente quella parte più anziana esposta a una precedente epidemia.

Le caratteristiche del meccanismo di trasmissione dell'infezione morbillosa sono essenzialmente determinate, nella legge di azione di massa, dalla probabilità di contatto tra soggetto infettante e soggetto suscettibile, in quanto la probabilità di contagio è molto elevata (> 90%) una volta instaurato il contatto fisico. Pertanto l'epidemiologia del m. è fortemente influenzata dalle condizioni locali di densità di popolazione e dalle abitudini di vita. La comprensione della legge che presiede al meccanismo di diffusione permette anche di prevedere o interpretare le conseguenze dell'introduzione in una data popolazione di programmi di vaccinazione (Nokes e Anderson, 1988).

In condizioni naturali la circolazione dell'infezione, regolata dalla frazione di suscettibili presenti nella popolazione, costantemente trasforma i suscettibili in immuni così che dopo una certa età, in generale all'inizio dell'adolescenza, praticamente tutti gli individui hanno avuto modo di contrarre l'infezione. I nuovi nati rappresentano la costante sorgente che produce e mantiene la frazione di suscettibili presenti nella popolazione. L'immunità materna ha una vita media molto breve, con un processo di decadimento esponenziale, tale che già al terzo mese di vita oltre il 70% dei nuovi nati risulta suscettibile all'infezione morbillosa (Santoro *et al.*, 1984). La concreta disponibilità dei nuovi nati a ricevere l'infezione dipende dalla probabilità di contatti comunitari, che risulta essere molto scarsa nei paesi ad alto indice di sviluppo socioeconomico (famiglia nucleare), mentre è molto elevata in quelli in via di sviluppo a causa delle condizioni di sovraffollamento. Da ciò consegue, in questi ultimi paesi, che il 50% dei casi di m. si ha nel 1° anno di vita e, a causa della maggiore letalità a tale età e in associazione ai bassi standard igienico-sanitari, che il tasso di mortalità sia particolarmente elevato, facendo sì che il m. sia nel 1° anno di vita la seconda causa di morte nel mondo dopo le diarree infantili (Aaby e Clements, 1989).

La sistematica riduzione della mortalità nei paesi industrializzati negli ultimi decenni, anche prima dell'introduzione della vaccinazione, è stata conseguenza della riduzione dell'incidenza del m. nel 1° anno di vita, per la riduzione del sovraffollamento, piuttosto che per la migliorata e aumentata possibilità di cura. Per lo stesso motivo l'età di massima incidenza, che praticamente corrisponde all'età a cui si ha il 50% di immuni nel profilo sierologico di una popolazione, è funzione delle condizioni di sovraffollamento e quindi della precocità dell'infezione. In Italia, alla fine degli anni '70 al Sud, l'età di massima incidenza corrispondeva all'inizio del terzo anno di vita, al Centro Nord al 4-6° anno (Santoro *et al.*, 1984).

Nei paesi industrializzati la minore probabilità di contrarre l'infezione nei primi due e soprattutto nel 1° anno di vita, per la diffusione della famiglia nucleare, produce come effetto la classica ciclicità bio- o triennale, in quanto, dopo la consistente riduzione dei suscettibili in seguito al passaggio di un'ondata epidemica, si ha un rallentamento della circolazione dell'infezione (anni interepidemici) fintanto che i nuovi suscettibili non siano effettivamente abbastanza numerosi da essere disponibili al contatto comunitario, cioè a contrarre l'infezione e quindi a sostenere la nuova ondata epidemica.

Anche l'andamento stagionale del m. è più conseguenza dei periodi dell'anno in cui i suscettibili hanno occasione di aggregarsi, che delle condizioni climatiche conseguenti l'avvicendarsi delle stagioni. È noto peraltro che nei paesi industrializzati la malattia generalmente si manifesta nel periodo invernale-primaverile.

L'incidenza del m., tenendo conto che dopo una certa età praticamente tutti hanno contratto l'infezione, può essere stimata mediamente pari a circa il 95% dei nuovi nati. Per es., in Italia vengono notificati in media 50.000 casi all'anno con fluttuazioni tra 20-30 mila e 80-90 mila, a seconda della fase del ciclo epidemico (Grandolfo, 1985). Ma i profili immunitari ottenuti mediante indagini sieroepidemiologiche e che mostrano che, superati i 10 anni di età, oltre il 90% della popolazione ha anticorpi, sono compatibili, secondo modelli matematici, con una incidenza dieci volte superiore a quella notificata (Santoro *et al.*, 1984). Il livello di notifica ovviamente è proporzionale alla qualità dei servizi sanitari, quindi non sorprende che in Italia al Nord mediamente si notifichi un caso di morbillo su tre e al Sud uno su trenta. Tale diversità di sottonotifica impone cautela nella valutazione dell'incidenza notificata specifica per età, perché a livello nazionale le prime classi annuali sono meno rappresentate.

Sempre in Italia alla fine degli anni '60 venivano notificate oltre 200 morti per m., di cui il 50% nel 1° anno di vita e il 70% al Sud; alla fine degli anni '70 i morti notificati risultavano poco più di 20 ma sempre con la stessa distribuzione per classe di età e per area geografica. La potenziale gravità del m. è testimoniata anche dall'incidenza dei ricoveri ospedalieri stimati in Italia attorno a 1-2 casi per ogni cento casi reali di m., con una degenza media di circa 10 giorni (Grandolfo, 1985).





Digitized by Google

L'introduzione della *vaccinazione* ha radicalmente modificato in alcuni paesi l'epidemiologia del m., sia riguardo l'incidenza assoluta che per quella specifica per classe di età, il tutto in funzione della strategia di vaccinazione adottata.

La sostanziale interruzione della trasmissione dell'infezione e quindi l'azzeramento dei casi di m. autoctoni con solo un residuo di casi importati, che tuttavia non erano in grado di propagare l'infezione all'interno della popolazione, sono stati ottenuti immediatamente in quei paesi dove la strategia di vaccinazione non solo ha previsto di includere all'inizio una popolazione bersaglio sufficientemente ampia all'interno della quale in era prevaccinale venivano registrati oltre il 90% dei casi di m., ma era anche organizzata su criteri operativi (offerta attiva e individuale della profilassi) tali da garantire livelli di copertura vaccinale superiori al 90% in tutte le classi di età della popolazione bersaglio iniziale e, negli anni successivi, per tutti i nuovi nati (Sabin, 1991; Grandolfo, 1986).

Dove, invece, nella fase iniziale, e successivamente, l'indicazione alla vaccinazione ha riguardato sostanzialmente i bambini nel 2° anno di vita e in più non sono stati raggiunti tassi di vaccinazione sufficientemente elevati, si è avuta sì una significativa riduzione dei casi di m., ma successivamente nei decenni successivi sono state osservate recrudescenze epidemiche in età giovanile-adulta e ciò a causa di un processo di accumulazione di suscettibili in tali età nel corso degli anni successivi all'inizio dell'era vaccinale. Infatti la immunizzazione iniziale di una sola parte di suscettibili presenti nella popolazione, nel ridurre la loro frazione, ha determinato un rallentamento della circolazione dell'infezione per cui, i restanti suscettibili hanno acquisito una maggiore probabilità di rimanere tali più a lungo nel tempo. Le occasioni di stretta aggregazione in età giovane-adulta (*campus* universitari, reclute, luoghi di lavoro) hanno favorito lo sviluppo di eventi epidemici. A questa circolazione dell'infezione in età giovane-adulta si è aggiunta quella nei primi anni di vita a causa della non tempestiva immunizzazione, soprattutto nelle classi sociali e nelle etnie più svantaggiate (*MMWR*, 1990; *MMWR*, 1991a).

Per evitare tali effetti indesiderati della suddetta strategia vaccinale e qualora non si intenda realizzare la vaccinazione di massa di tutti i suscettibili nella fase iniziale, è stata considerata una strategia a due dosi: al 2° e al 12° anno (Bottiger *et al.*, 1987). Tale strategia si impone se la vaccinazione contro il m. viene realizzata con il vaccino trivalente (morbillo, rosolia, parotite). Infatti la sola indicazione di vaccinazione del 2° anno di vita con il trivalente ha prodotto non solo l'accumulo in età giovane adulta di suscettibili rispetto al m. ma anche, e in modo imponente, rispetto a rosolia e parotite con le prevedibili conseguenze (*MMWR*, 1989; *MMWR*, 1991b). Per questo problema, una alternativa all'impiego del trivalente a 12 anni è rappresentata dalla vaccinazione selettiva contro la rosolia per le bambine e contro la parotite per i bambini prima dell'ingresso nella pubertà.

In Italia la vaccinazione contro il m. è raccomandata dal 1979 (Ministero della Sanità, 1979). Già dal 1978 Emilia-Romagna e Lombardia hanno varato programmi mirati rivolti alla popolazione infantile al di sotto dei 3 anni soprattutto frequentanti gli asili nido. L'Istituto Superiore di Sanità (ISS) dal 1980 è andato realizzando campagne di vaccinazione di massa in bambini (comuni, province, USL) secondo la strategia tendente alla rapida eliminazione del m. Sulla base dei risultati di tali esperienze, che hanno dimostrato la totale disponibilità della popolazione se attivamente coinvolta, l'adesione dei medici e l'efficacia della strategia adottata, il Consiglio Superiore di Sanità (CSS) nel 1985 ha espresso parere favorevole per la obbligatorietà della vaccinazione.

Da allora si è avuta una maggiore diffusione spontanea della profilassi soprattutto nel 2° anno di vita, con tassi di vaccinazione però non superiori al 20-50%. Successivamente al parere del CSS, il Consiglio Sanitario Nazionale (CSN) ha varato un programma nazionale di vaccinazione di massa, secondo la strategia proposta dall'ISS e affidando allo stesso il coordinamento scientifico. Tale programma prevedeva nella fase iniziale una popolazione bersaglio di età compresa tra 13 mesi e 8-10 anni, a seconda della realtà epidemiologica, cui offrire attivamente e individualmente la profilassi. Sono state coinvolte tutte o parte delle USL di 9 regioni, con un finanziamento speciale dal Fondo Sanità Nazionale. Altre 6 regioni hanno successivamente aderito al programma con propri finanziamenti.

Già nel 1990, anno previsto come interepidemico, si è avuta una riduzione dell'80% (con 5000 casi) in confronto con i precedenti anni interepidemici (1986, 1987 e 1989) ma tale riduzione è risultata del 90% nelle 15 regioni interessate dal programma e solo del 50% nelle rimanenti (fig. 1). Lo straordinario effetto del programma è pesantemente mascherato dal diverso livello di sottonotifica nel 1990 e negli anni presi a confronto, in quanto in seguito a campagne vaccinali aumentano sensibilmente le notifiche, in relazione anche ai sistemi di sorveglianza attivi messi in atto

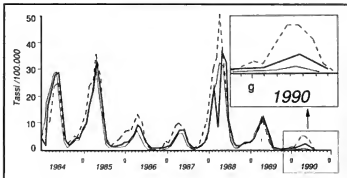
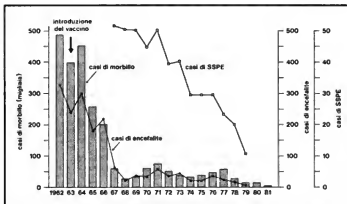



Fig. 1. Notifiche mensili di m. in Italia (1984-1990). La *linea spessa* indica i casi totali; la *linea sottile* i casi nelle regioni in cui è stato implementato il programma di vaccinazione di massa contro il m.; la *linea tratteggiata* indica i casi nelle regioni in cui il programma non è stato implementato.





Digitized by Google

Fig. 2. Numero dei casi di m., encefalite morbillosa e panencefalite sclerosante subacuta (SSPE) notificati negli U.S.A. nel periodo 1962-1981. (*Da Krugman S., Rev. Infect. Dis.*, *1983, 5, 477-481*).

contestualmente alla campagna vaccinale. Inoltre non in tutte le regioni tutte le USL sono state coinvolte e tra quelle coinvolte non tutte hanno completato il programma. Nelle USL dove questo è avvenuto non si è avuta più circolazione di m. La drastica riduzione di incidenza del m. ha dimostrato a posteriori la validità dell'assunzione dello stato di immunità naturale sulla base del ricordo dei genitori, che era risultato avere un valore predittivo positivo molto alto (> 90%) in confronto con il test sierologico (Grandolfo, 1986).

Nel caso del m. l'OMS ha posto l'obiettivo dell'eradicazione su scala globale (come il vaiolo) e l'eliminazione entro il 1995 in Europa. Come si è visto sarà cruciale il tipo di strategia che viene adottato. Infatti per raggiungere l'obiettivo dell'eliminazione del m. autoctono e cioè, in definitiva della circolazione della infezione, è necessario nella fase iniziale immunizzare il maggior numero di suscettibili nella sezione di popolazione da cui provengono in era prevaccinale oltre il 90% dei casi e, negli anni successivi, oltre il 90% dei nuovi nati.

Una strategia alternativa, che permette di raggiungere l'obiettivo della eliminazione del m. in un tempo più lungo, prevede la vaccinazione al 2° anno di vita e al 12° anno: quest'ultima indicazione deve persistere fintanto che la prima coorte vaccinata al 2° anno di vita non raggiunga il 12° anno (Bottiger *et al.*, 1987). L'eventuale mantenimento della vaccinazione al 12° anno potrebbe trovare una giustificazione per recuperare i *non responders* e per superare gli eventuali problemi di persistenza dell'immunità, una volta che venga a mancare la sollecitazione (*buster*) dell'infezione naturale. La scelta tra le due strategie, la prima delle quali più rapida nel raggiungere l'obiettivo, dipende dalla capacità operativa di garantire alti tassi di vaccinazione nelle corrispondenti popolazioni bersaglio. Come si è detto, la strategia a due dosi auspicabilmente complementata con una campagna di massa contro il m., nella fase iniziale, nelle età intermedie, è indispensabile se si impiega il vaccino trivalente.

Dopo quasi trent'anni di esperienza di vaccinazione contro il m. sono ancora più consolidati i parametri di efficacia e di sicurezza dei vaccini impiegati.

Gli effetti collaterali sono di modesta entità (febbre > 38,5 °C in meno del 20% dei vaccinati, esantema non esteso in circa il 5%) e insorgono in 9ª-10ª giornata per una durata media di 2-3 giorni.

Reazioni gravi da vaccino non sono dimostrate e la temuta encefalite post-vaccinale (encefalite a etiologia non altrimenti conosciuta) che insorge nei successivi trenta giorni ha una incidenza inferiore almeno della metà rispetto a confrontabili controlli non vaccinati.

Riguardo la panencefalite sclerosante subacuta (SSPE) l'esperienza statunitense è risolutiva nel senso che la riduzione della SSPE ha avuto lo stesso andamento dei casi di m. con l'aspettato ritardo di circa 7 anni (fig. 2) nell'inizio della diminuzione dei casi, che corrisponde al tempo medio di latenza (Krugman, 1983).

Riguardo la sicurezza sembra ormai consolidata la convinzione che l'allergia alle proteine dell'uovo non costituisca controindicazione (Bruno *et al.*, 1990) e che non ci sia bisogno del test cutaneo. Anche la condizione di cerebropatia non solo non controindica ma suggerisce positivamente la vaccinazione (Polo, 1989).

Sulla persistenza dell'immunità valutata in modo controllato non sussistono molti dubbi (Krugman, 1983) anche se l'incidenza di casi di m. in soggetti vaccinati, pur tenendo conto che la causa più probabile dell'insuccesso della vaccinazione sia da ricercare nella cattiva conservazione del vaccino usato nel passato e quindi non stabilizzato rispetto alla temperatura, mantiene aperto il problema (Bradley *et al.*, 1991).

Come è noto l'unica reale controindicazione permanente è lo stato di grave immunodeficienza naturale o acquisita, anche se bambini HIV-sieropositivi (sintomatici o no) sono indicati per la vaccinazione, che si è dimostrata sicura, in quanto il m. nella loro condizione è frequentemente mortale (*MMWR*, 1988).

**Bibliografia**


Aaby P., Clements C. J., *Bull. WHO*, 1989, **67**, 443.
Bottiger M. *et al.*, *Br. Med. J.*, 1987, **295**, 1264.
Bradley S. *et al.*, *Am. J. Public Health*, 1991, **81**, 360.
Bruno G. *et al.*, *Riv. Ital. Pediatr.*, 1990, **16**.
Grandolfo M. E., *Aggiornamento del Medico*, 1985, **7** (5), 332.
Grandolfo M. E., *Public Health*, 1986, **100**, 208.
Krugman S., *Rev. Infect. Dis.*, 1983, **5**, 477.
Ministero della Sanità, Circ. n. 41 del 25/6/1979.
*MMWR*, 1988, **37**, 183.
*MMWR*, 1989, **38**, 101.






Digitized by Google

*MMWR*, 1990, **39**, 353.
*MMWR*, 1991a, **40**, 36.
*MMWR*, 1991b, **40**, 93.
Nokes D. J., Anderson R. M., *Epidemiol. Inf.*, 1988, **101**, 1.
Peltola H., Heinonen O., *Lancet*, 1986, **1**, 939.
Polo M., *Acta Ped. Lat.*, 1989, **42**, 375.
Sabin A. B., *Eur. J. Epidemiol.*, 1991, **7**, 1.
Santoro R. *et al.*, *Int. J. Epidemiol.*, 1984, **13**, 201.

GIOVANNI ROCCHI, STEFANO VELLA E MICHELE E. GRANDOLFO

## MORFINA [v. vol. IX, col. 1910]

Se, rispetto alla precedente edizione, il processo di acquisizione di nuove informazioni sugli effetti farmacologici e sui meccanismi d'azione della morfina è continuato inesausto (v. ANALGESICI*; OPPIOIDI PEPTIDI*), non è mutato sostanzialmente il profilo terapeutico del farmaco. Unica eccezione: non è più autorizzato dalla vigente normativa sulle TOSSICOMANIE (v.*) l'impiego della m. nel divezzamento dell'eroinomane come invece era permesso dal Decreto del Ministero della Sanità del 10 ottobre 1980.

RED.

## MORFINISMO [v. vol. IX, col. 1923]

*Terapia della fase di dipendenza da oppiacei*

Come era da attendersi, la normativa riguardante le terapie farmacologiche di divezzamento dal morfinismo hanno subito sostanziali rimaneggiamenti. In particolare, è caduta la già allora insostenibile autorizzazione all'uso «in via sperimentale», nei programmi di trattamento degli stati di dipendenza da oppiacei, della morfina (cfr. Decreto del Ministero della Sanità del 10 ottobre 1980); tra gli oppiacei, resta permesso l'impiego del solo metadone. Per ulteriori dettagli v. TOSSICOMANIE*.

RED.

## MORFINOMIMETICI PEPTIDI: v. MORFINOMIMETICI PEPTIDI (IX, 1929); OPPIOIDI PEPTIDI*.

## MORICIZINA

F. *moricizine*. - I. *moricizine*. - T. *Moricizin*. - S. *moricizina*.

Derivato morfolinico della fenotiazina, la moricizina (m.) o etmozina, al pari del suo analogo dietilaminico (etacizina), è un antiaritmico di classe I (stabilizzanti di membrana per blocco dei canali per il sodio). Assimilabile a chinidina, procainamide e disopiramide (sottoclasse $I_A$) per l'intensità di questa azione di blocco, la m. se ne differenzia per la capacità che condivide con lidocaina, mexiletina, fenitoina e tocainide (sottoclasse $I_B$) di accelerare la ripolarizzazione miocardica. Sul piano elettrocardiografico questi effetti si traducono in un allungamento degli intervalli PR e QRS e in modesto accorciamento dell'intervallo QT.

La m. ha elevata biodisponibilità: dopo assunzione orale la sua concentrazione ematica raggiunge un picco a 0,5-2 h e quindi decade con emivita di 1,5-3 h. La marcata metabolizzazione epatica di primo passaggio porta in parte a composti attivi che vengono eliminati per via urinaria. Alla formazione di metaboliti attivi è dovuta la mancanza di chiari rapporti fra livelli ematici di m. e attività antiaritmica: questa raggiunge il suo acme 10-14 h dopo la somministrazione di una dose singola e persiste per più di 10 h.

Nelle extrasistolie e nelle tachicardie ventricolari la m. esercita ben documentati effetti antiaritmici; alle dosi di 200-300 mg ogni 8 h la m. risulta pari nella sua efficacia alla chinidina, inferiore all'encainide e superiore alla disopiramide somministrate nelle dosi abituali. Restano da accertare gli effetti della m. in un discusso campo di utilizzazione degli antiaritmici di classe I: quello dei soggetti in fase postinfartuale con aritmie ventricolari, ove l'impiego dell'encainide o della flecainide (sottoclasse $I_C$), pur riducendo l'extrasistolia ventricolare, si è accompagnato a un significativo aumento di eventi mortali.

Al pari degli altri antiaritmici la m. può esercitare effetti proaritmici di cui non è al momento nota l'incidenza e la gravità nei confronti di altri farmaci del gruppo. Dei poco frequenti effetti collaterali (capogiri, nausea, cefalea) solo la febbre, considerata una espressione minore dell'ipertermia maligna da neurolettici, è riferibile alla struttura fenotiazinica della m.

**Bibliografia**

Akhtar M. *et al.*, *Circulation*, 1990, **81**, 1123.
Goodman Gilman A., Rall T. W., Nies A. S., Taylor P. eds., *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 1990, Pergamon Press, New York.
Makielski J. C. *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1990, **253**, 1110.
Morganroth J., Pratt C. M., *Am. J. Cardiol.*, 1989, **63**, 172.

AMILCARE CARPI DE RESMINI

## MORTE IMPROVVISA [v. vol. IX, col. 1985]

SOMMARIO



### Morte improvvisa coronarica

*Premessa*

L'elenco delle diagnosi differenziali da considerare in presenza di morte improvvisa è straordinariamente lungo. Una elegante classificazione fisiopatologica di Lown, riportata nella prima edizione di un classico trattato (Braunwald, 1980), enumera 22 fattori cardiovascolari, 9 fattori respiratori, 10 fattori neurologici centrali, 4 fattori metabolici e 10 fattori vari. Nonostante le 55 possibili cause elencate, la classificazione di Lown, come quella che riportiamo nella tab. 1, o altre ancora, possono comunque apparire incomplete se si considera che qualsiasi *noxa* intrinseca o estrinseca che interferisca con le proprietà batmotropa, cronotropa, dromotropa e inotropa del miocardio nonché con la *compliance* del sistema circolatorio, può determinare un arresto cardiaco con conseguente ipoperfusione cerebrale e morte. Per quanto possa sembrar banale, ogni decesso, di qualsiasi natura, è in definitiva dovuto ad arresto cardiaco. Non va peraltro dimenticato che la cardiopatia ischemica (v. INFARTO MIOCARDICO; INFARTO MIOCARDICO*) costituisce, tra i fattori etiologici, quello nel quale è possibile osservare la massima incidenza di arresti cardiaci e pertanto le altre etiologie possibili vanno tutte considerate in subordine.

In questo articolo abbiamo concentrato l'attenzione sulla m. i. a etiologia coronarica che rappresenta oltre il 90% dei casi osservati di arresto cardiaco, definito secondo i criteri illustrati più avanti. La m. i. può comparire in altre condizioni morbose: la sindrome di Marfan (v. MARFAN, SINDROME DI), le sindromi del Q-T lungo (v. Q-T LUNGO, SINDROME DEL*), il tamponamento cardiaco (v.), l'embolia polmonare (v. POLMONARE ARTERIA; POLMONE), l'ipertensione polmonare (v.; v.*) primitiva, le valvulopatie acqui-

Digitized by Google

**TAB. I. CLASSIFICAZIONE DELLE POSSIBILI CAUSE DI MORTE IMPROVVISA IN BASE A CRITERI FISIOPATOLOGICI**

**Cause cardiovascolari**
*Anomalie del batmo-dromo-cronotropismo*
Aritmie ad alta frequenza
Bradicardia
Asistolia
*Anomalie dell'inotropismo*
Insufficienza cardiaca acuta e shock cardiogeno
Stenosi aortica, mitralica e tricuspidale
Tamponamento cardiaco
Rottura del cuore
Dissezione aortica
Tumori del cuore
Ipertensione polmonare primitiva
Miocardiopatie o cardiomiopatie

**Cause respiratorie**
Embolia polmonare
Asfissia e apnea spontanea
Sindrome di Pickwick

**Cause nervose centrali**
Sindrome seno-carotidea
Infarto cerebrale
Epilessia
Sindrome vaso-vagale

**Cause metaboliche e tossicologiche**
Ipossia
Ipercalcemia
Ipoglicemia
Farmaci (digitale, diuretici, antiaritmici)
Alcolismo
Punture di insetti
Esposizione ad idrocarburi volatili

site, specie aortiche (v. VALVOLARI CARDIOPATIE), l'infarto cerebrale (v. ENCEFALOPATIE VASCOLARI*), le crisi ipertensive in genere (v. IPERTENSIONE ARTERIOSA*) e le miocardiopatie (v.*). Infine, alcuni farmaci di impiego corrente in cardiologia (digitale, diuretici, antiaritmici) possono indurre una serie di squilibri elettrolitici e provocare in modo diretto ed indiretto aritmie maligne e m. i. Per una trattazione approfondita di questi specifici capitoli si rinvia ad altre sezioni di questa Enciclopedia.

Da un punto di vista probabilistico è importante sottolineare come il considerare possibile un decesso improvviso in condizioni patologiche ad alta prevalenza nella popolazione costituisca un indebito allarmismo quando l'incidenza del decesso improvviso in tali condizioni sia estremamente bassa. Illustrando come es. la m. i. nel prolasso valvolare mitralico (descritta come dovuta ad aritmie ventricolari) ed accettando una prevalenza dello stesso in Italia dello 0,33%, si può calcolare che esistono 180.000 portatori di tale anomalia. Eppure dei 46 casi di m. i. in soggetti con prolasso della mitrale, descritti nella letteratura internazionale, nessuno risulta di nazionalità italiana.

All'estremo opposto esistono condizioni patologiche rarissime nella popolazione ma nelle quali l'incidenza di m. i. è estremamente elevata. Esempio esplicativo è dato dalle sindromi del Q-T lungo congenito (senza e con sordità [queste ultime caratterizzate da sordità congenita, donde il nome di *sindromi sordocardiache*]), nelle quali il 73% dei soggetti senza trattamento presenta una m. i. a breve distanza di tempo dal riscontro di un prolungamento patologico dell'intervallo Q-T. Sebbene siano meno di 1000 i pazienti inclusi in un registro internazionale della sindrome, l'allarme è giustificato, considerata la letalità della condizione nella sua evoluzione spontanea.

L'arresto cardiaco di etiologia coronarica si pone in una via di mezzo in termini relativi. In termini assoluti il problema è invece del massimo rilievo, sia nell'ambito della popolazione generale (apparentemente sana), sia nel più ristretto sottogruppo di individui con cardiopatia coronarica nota e/o resasi evidente per la comparsa di angina o di un infarto del miocardio.

*Definizione dell'arresto cardiaco primario e considerazioni probabilistiche*

Nel 1979 un gruppo di esperti dell'International Society and Federation of Cardiology e della World Health Organization (WHO), riunitosi a Roma per fissare i criteri di nomenclatura e diagnosi della *cardiopatia ischemica*, definirono «l'arresto cardiaco primario come un evento improvviso, presumibilmente dovuto ad instabilità elettrica del cuore e per il quale mancano dati obiettivi tali da permettere una diagnosi alternativa. In assenza di manovre di rianimazione ovvero in caso di loro insuccesso, l'arresto cardiaco primario viene considerato morte improvvisa». Una nota spiega che «il Comitato ha voluto omettere la definizione della m. i. in quanto questa appare conseguenza dell'arresto cardiaco, vera evidenziazione quest'ultimo della cardiopatia ischemica. La definizione impiegata deve essere pertanto operazionale: in futuro sarebbe preferibile annotare il tempo trascorso dall'inizio dei sintomi in ciascun caso».

Grande merito della definizione proposta nel 1979 appare quello di avere spostato l'attenzione dalla sindrome clinica (la m. i.) al suo meccanismo patogenetico (l'arresto cardiaco), nonché quello di avere evitato indicazioni temporali. La non indicazione di queste ultime permette ad es. di considerare un decesso dovuto a m. i. anche nel caso in cui ad un arresto cardiaco abbiano fatto seguito manovre rianimatorie che, protratte per svariate ore, siano alla fine risultate inefficaci.

Successiva giustificazione obiettiva della definizione del 1979 è venuta dai dati raccolti da Hinkle e Thaler (1982) in un campione di 743 uomini di età tra i 50-65 anni, seguiti per 5-10 anni e nei quali una classificazione basata sulle condizioni del circolo prima del decesso si è dimostrata molto utile per caratterizzare coloro che decedettero improvvisamente. Infatti, nel 58% dei 142 decessi osservati la morte avvenne improvvisamente per collasso acuto (morti aritmiche) mentre nel 42% dei casi venne osservata la scomparsa del polso in seguito al collasso del circolo periferico (morti in scompenso di circolo). Il 93% dei decessi intervenuti in meno di un'ora dall'inizio dei sintomi apparteneva alla categoria morti aritmiche, mentre il 74% dei decessi osservati dopo almeno un'ora dall'inizio dei sintomi apparteneva alla categoria morti in scompenso di circolo. Pertanto l'equazione arresto cardiaco = m. i. è tale solo in assenza di scompenso di circolo, vale a dire in caso di primarietà dell'evento.

La maggior parte (dal 59 al 75%) degli arresti cardiaci non rianimati (m. i.) appaiono in presenza di testimoni. Questi ultimi possono fornire importanti informazioni circa i sintomi presenti nel paziente prima del decesso, tramite i quali è possibile risalire a posteriori, con buona approssimazione, ai meccanismi fisiopatologici del decesso stesso. Dolore, dispnea, edema polmonare o perdita repentina della coscienza, così come riferiti dal testimone, sono inoltre elementi probanti per stabilire l'etiologia dell'arresto cardiaco. Ciò ha condotto a includere la presenza di un testimone tra i requisiti necessari per definire la m. i. (*wit-*





Digitized by Google

*nessed death*) tanto in studi su popolazione che in campioni selezionati di pazienti. Riteniamo che tale requisito rappresenti una importante garanzia restrittiva di obiettività e come tale debba essere incluso tra quelli indispensabili per attribuire la qualifica di m. i. a un arresto cardiaco primario non rianimato. Riteniamo invece che la prevedibilità (*expectedness*) dell'arresto cardiaco non costituisca un elemento di rilievo, fatta salva l'esclusione di una diagnosi alternativa.

Sembra da ultimo necessario richiamare quanto ricordato da Gillum *et al.* (1984) circa l'opportunità di stabilire criteri diagnostici tali da individuare casi «certi» e «probabili» di m. i. in base alla specificità e completezza dell'informazione raccolta per ciascun caso. L'insieme dei dati così raccolti (casi certi + casi probabili) fornirà ragguagli molto sensibili sulla m. i. al costo di una ridotta specificità, mentre i dati provenienti dai soli casi certi avranno una specificità tale da poter essere utilizzati per ricerche di natura etiologica nelle quali è preferibile escludere erroneamente casi certi che includere non casi; l'erronea inclusione dei non casi per cattiva classificazione, diluisce nel campione in studio ogni eventuale significatività tra le differenze. Al contrario l'eliminazione dei casi certi (per criteri classificativi troppo rigidi) riduce l'ampiezza del campione e quindi le generalizzazioni che se ne potrebbero trarre: solo uno studio ben programmato in partenza sarà al riparo da questo inconveniente, essendo in tal caso possibile prevedere un campione sufficientemente ampio.

È evidente che i problemi di definizione ai quali si è accennato devono essere attentamente compresi e valutati quando dagli studi disponibili in letteratura si vogliano desumere informazioni in tema di m. i. Ancora una volta decisivo è l'impiego delle informazioni. Operativamente è pertanto opportuno sottolineare che di seguito verrà fatto riferimento alla m. i. come ad un «evento molto rapido (meno di 1-2 h), di origine prevalentemente cardiovascolare, e coronarica in particolare». Potrà essere utile fare riferimento ad uno schema interpretativo dei dati disponibili sull'argomento, basato su una progressione esponenziale della probabilità (rischio) di m. i.: ad un estremo della curva si trovano i soggetti apparentemente sani e che non dimostrano fattori di rischio svelabili (rischio minimo), all'altro estremo i soggetti con infarto del miocardio e diffuse anomalie cliniche e biologiche tali da condizionare il massimo del rischio di arresto cardiaco.

*Anatomia patologica*

La m. i. si accompagna, in genere, a stenosi coronariche multiple ed a lesioni miocardiche ischemiche focali che, tuttavia, non sono sempre facilmente riconoscibili. In molti casi è presente cardiomegalia; due terzi dei pazienti presentano un infarto recente o cicatrizzato; molti casi presentano un'ischemia recente con degenerazione miofibrillare. Le lesioni cellulari sono spesso diverse da quelle dell'infarto e assomigliano piuttosto alle lesioni sperimentali da catecolamine, con rare trombosi e con meccanismo fisiopatologico conseguentemente diverso. Studi di ampio respiro sull'argomento hanno dimostrato che mentre la necrosi coagulativa è tipica dell'infarto (morte atonica del miocardio), la miocitolisi coagulativa (morte tetanica) e la miocitolisi colliquativa (morte progressiva) sono tipiche della m. i. Mentre questi dati pongono l'accento sul ruolo che il sistema neurovegetativo potrebbe avere nella genesi della m. i., la ridotta percentuale di casi di m. i. nei quali uno studio anatomopatologico completo è stato condotto, dovrebbe sottolineare l'esigenza di maggiori dati, per meglio definire i rapporti tra substrato (certamente di natura arteriosclerotica) ed eventuali fattori scatenanti (spasmo?, emozioni?, neurormoni?).

*Meccanismi elettrofisiologici*

I meccanismi elettrofisiologici della m. i. sono stati studiati sperimentalmente nel cane con occlusione artificiale (legatura, trombizzazione meccanica e/o elettrica) delle coronarie. Se la m. i. si verifica poco dopo l'occlusione, il meccanismo è quello del rientro per conduzione rallentata in aree ischemiche o infartuate; se, invece, avviene in fase tardiva, il meccanismo in gioco appare diverso: è stato infatti dimostrato che le fibre di Purkinje subendocardiche sviluppano una depolarizzazione diastolica spontanea con durata abnormemente lunga dei potenziali d'azione e che da questa sede possono ingenerarsi fenomeni automatici, causa di innesco delle aritmie maggiori (v. ARITMIE*). La fibrillazione ventricolare può avvenire anche in seguito a riperfusione, come nel caso di una lisi di un trombo occludente o di rilascio di una precedente legatura coronarica, sebbene esistano dubbi circa la rilevanza clinica di questo fenomeno; anche a livello sperimentale i meccanismi non sono del tutto noti, legati forse alla liberazione di radicali superossido o al sovraccarico intracellulare di calcio. Comunque i meccanismi fisiopatologici che conducono alla fibrillazione ventricolare spesso non rispondono a questo schematismo ed è pur vero che tra i determinanti della probabilità di aritmia, l'«ischemia» stessa (misurata ad es. nell'animale dalla deflessione positiva del segmento ST all'ECG) riveste un ruolo fondamentale e proporzionale: più elevata l'estensione e/o la gravità dell'ischemia, anche sotto un profilo temporale, maggiore il rischio di fibrillazione ventricolare dopo occlusione-riperfusione coronarica. Molti altri fattori sono poi in gioco: tra questi la suscettibilità individuale (età, sesso, «predisposizione», estensione anatomofunzionale del circolo collaterale), lo stato del sistema neurovegetativo (probabilità più elevata nell'ipersimpaticotonia) e di quello neuroendocrino (gli acidi grassi liberi sono aritmogenici). Quello della cardiologia sperimentale nel settore della m. i. è dunque un campo nel quale il futuro sarà certamente ricco di acquisizioni di notevole interesse.

*Dati epidemiologici*

1. *Dimensione del problema.* – Si può calcolare che in un anno in Italia oltre 11.000 soggetti decedano entro 1 h dall'inizio di una sintomatologia di dolore acuto precordiale. Queste stime sono peraltro conservative (solo soggetti da 20 a 64 anni), basate sui dati di incidenza media, relativi a popolazioni non italiane e nell'ambito delle quali esiste un'ampia variabilità di incidenza di attacchi coronarici acuti (minimo a Bucarest 0,3/1000 abitanti di sesso femminile, 1,5/1000 di sesso maschile; massimo ad Helsinki 1,6/1000 abitanti di sesso femminile, 7,3/1000 abitanti di sesso maschile). Pur con queste limitazioni, in Italia si avrebbero annualmente 1323 infarti del miocardio e 213 m. i. coronariche (entro 1 h dall'inizio dei sintomi) per milione di abitanti (un decesso ogni 45 min). Altre stime, basate su dati epidemiologici italiani provenienti dal Seven Countries Study, con un *follow-up* di 25 anni, concludono che nel nostro Paese si hanno ogni anno 535 m. i. coronariche (entro 2 h dall'inizio dei sintomi) per milione di abitanti (Puddu *et al.*, 1986; Menotti *et al.*, 1987). Dati recenti derivati dal Progetto Monica - Area Latina condotto in Italia indicano che l'incidenza di m. i. presumibilmente coronarica (entro 1 h dall'inizio dei sintomi) nella popolazione generale di età compresa tra 25 e 74 anni è del 15,3 per 100.000 per anno (Giampaoli *et al.*, 1990).

In paesi con incidenza elevata (U.S.A., Finlandia) o media (centro Europa) di cardiopatia coronarica, oltre un quarto degli episodi coronarici più gravi si conclude, nei soggetti adulti (forse più raramente in quelli oltre 70 anni), con un evento fatale che si verifica entro 1, 2, 3 h dall'inizio dei sintomi, e cioè entro tempi poco utili per validi e tempestivi interventi medici. In questi paesi l'incidenza di car-



Digitized by Google

diopatia coronarica nelle classi di età 25-74 anni è in media dell'ordine dell'uno per mille per anno. È anche noto che l'evento m. i. è proporzionatamente più raro nelle popolazioni con una più bassa incidenza generale di cardiopatia coronarica (Giappone, Grecia), di cui l'evento stesso è, semplicemente, una particolare manifestazione ad evoluzione rapida e fatale.

Ancorché nel mondo occidentale si assista da anni ad un declino della mortalità per cardiopatia coronarica (e quindi deduttivamente della m. i.), la possibile prevenzione del fenomeno m. i. diviene comunque uno strumento operativo importante per ridurre il costo sociale della cardiopatia coronarica e delle sue conseguenze. A questo proposito, i dati maggiormente significativi riguardano: *a*) l'individuazione dei fattori di rischio nei soggetti sani o apparentemente tali; *b*) l'individuazione dei fattori di rischio nei pazienti che abbiano già superato un attacco coronarico acuto o che siano affetti da *angina pectoris*.

L'analisi dei dati della Kaiser Foundation di Oakland, California, ha permesso di definire tre categorie di fattori predisponenti alla m. i. (Chiang *et al.*, 1970): una e la più importante, costituita dalla presenza di una cardiopatia coronarica già acquisita; una seconda costituita dai classici fattori di rischio in persone peraltro sane; ed una terza costituita da fattori con peso predittivo chiaramente minore o ancora mal definito, come il siero chiloso, l'eccesso di emoglobina, la leucocitosi, la tachicardia, la ridotta funzionalità respiratoria, le anomalie della ripolarizzazione.

2. *Individui apparentemente sani.* – I dati dello studio di Framingham, insieme con quelli dello studio di Albany, hanno fornito, tramite un'analisi statistica multivariata, la seguente graduatoria di importanza dei vari fattori di rischio nel predire la m. i.: fumo di sigarette, peso, ipertrofia ventricolare sinistra e/o alterazioni aspecifiche del tratto ST e dell'onda T nell'ECG, pressione sistolica, colesterolemia (Kannel *et al.*, 1975).

In due gruppi italiani di 1588 soggetti apparentemente sani presi in considerazione nel Seven Countries Study, il rischio di andare incontro a m. i. durante 20-23 anni di *follow-up* è risultato proporzionale all'età, alla frequenza cardiaca, al livello di pressione sistemica media ed ai livelli di un nuovo indice di ipertrofia ventricolare sinistra: la somma dei voltaggi di QRS nelle 12 derivazioni standard. La colesterolemia, il fumo, i livelli di attività fisica lavorativa non sono invece risultati utili in questa analisi alla predizione del rischio di m. i. (Lanti *et al.*, 1990).

In un'altra analisi, condotta su 1661 uomini appartenenti a due gruppi rurali italiani del Seven Countries Study, in 25 anni, i casi andati incontro a m. i. potevano essere predetti oltre che in base all'età anche per i livelli di pressione sistemica media, colesterolo e consumo di sigarette, mentre i casi deceduti per infarto del miocardio o per cardiopatia coronarica cronica, potevano essere predetti solo in base ai livelli di pressione sistemica media e di colesterolo (Menotti *et al.*, 1987). Questi dati dimostrano che può di fatto esistere una «capacità specifica» di alcuni fattori a predire il rischio di m. i.: le implicazioni preventive di queste nuove acquisizioni sono evidenti.

Indicazioni più recenti, non sempre confermate da una analisi multivariata, suggeriscono che lo stress psicoemotivo ed il tipo comportamentale A di Friedman e Rosenman (soggetti psicologicamente aggressivi e con iperattività) sono pure fattori di rischio della m. i.

È invece interessante ricordare come l'extrasistolia isolata osservata in soggetti appartenenti alla popolazione generale non si associ ad un eccesso di rischio stimato di m. i.

3. *Pazienti con cardiopatia coronarica.* – I fattori di rischio della m. i. in soggetti già portatori di una cardiopatia coronarica (ad es., in forma di pregresso infarto miocardico [v.*] o di *angina pectoris* [v.*]) sono in gran parte diversi da quelli riscontrabili in soggetti ancora sani o apparentemente tali: o, per lo meno, i classici fattori di rischio hanno una rilevanza minore e passano in sottordine. Di certo il rischio di tali soggetti è molto superiore (fino ad alcune decine di volte) per la semplice presenza della cardiopatia, ma alcune caratteristiche ad essa direttamente o indirettamente legate possono incrementarlo notevolmente. In particolare, nei soggetti con infarto miocardico, l'età, la presenza di insufficienza cardiaca (o anche la sola riduzione della frazione di eiezione angiografica per effetto del pregresso infarto), l'ischemia miocardica residua (svelabile con varie metodiche, dalla classica prova da sforzo alla scintigrafia miocardica da primo passaggio), il blocco di branca sinistro, i livelli di azotemia, di creatininemia e di uricemia (registrati in tempi vari, ma comunque vicini all'epoca dell'infarto miocardico), la cardiomegalia, la tachicardia ventricolare (verificatasi nella fase acuta), il livello ematico di creatinfosfochinasi, l'uso di digitale nella fase acuta, le extrasistoli ventricolari, specie se cadono sull'onda T, la presenza di tachicardia ventricolare (tre o più complessi) all'esame Holter (v. ELETTROCARDIOGRAFIA*, *elettrocardiografia dinamica*), le aritmie atriali in fase acuta, sono tutti fattori che contribuiscono in varia misura a predire l'evento di m. i. per un periodo di tempo che va ben oltre la fase acuta. L'importanza dei singoli fattori, tuttavia, varia a seconda del tempo in cui vengono misurati e della predizione. Un particolare ruolo sembra comunque avere la presenza di ischemia residua e di extrasistolia ventricolare durante un arco di tempo di 24 h. Va notato, peraltro, che alcuni dei fattori di maggiore rilevanza in fase di predizione secondaria (qui descritta), pur rimuovendo, in termini statistici, l'importanza di quelli di maggior rilievo in prevenzione primaria, sono di fatto scarsamente modifi-

TAB. II. CARATTERISTICHE PREDITTIVE DELLA MORTE IMPROVVISA NEI PAZIENTI CON CARDIOPATIA CORONARICA

**Compromissione della funzione contrattile:**
- frazione di eiezione angiografica a riposo < 0,50
- frazione di eiezione radioisotopica da sforzo anormale
- rapporto cardio-toracico > 0,50
- segni clinici di insufficienza cardiaca

**Presenza di ischemia miocardica svelabile:**
- sottoslivellamento di ST alla prova da sforzo
- ridotta durata dello sforzo eseguito
- ischemia in una zona non sede di pregresso infarto
- difetti multipli di captazione alla scintigrafia con $^{201}$Tl e/o con MIBI $^{99}$Tc
- stenosi coronariche (> 70%) multiple

**Aritmie ventricolari:**
- classe Lown 2-5 all'ECG in 12 derivazioni
- frequenti (> 24/*die*) o ripetitive all'esame Holter di 1-24 h
- inducibili durante stimolazione elettrica programmata (?)

**Disturbi della conduzione intraventricolare:**
- blocchi di branca
- ipertrofia ventricolare sinistra

**Anomalie della ripolarizzazione:**
- allungamento dell'intervallo Q-T (sindrome del Q-T lungo)
- potenziali elettrici tardivi in diastole (?)

**Anomalie della frequenza cardiaca (esame Holter):**
- frequenza cardiaca media elevata
- ridotta variabilità spontanea





17. - Agg. P**.

Digitized by Google

cabili ovvero richiedono interventi di grande impatto individuale (*bypass* aortocoronarico) (v. CARDIOCHIRURGIA*) o economico-sociale (prevenzione secondaria della m. i. con interventi di terapia medica), ed ove si eccettuino i dati disponibili con i beta-bloccanti, molti di questi interventi non hanno dimostrato in modo inequivoco efficacia e/o ridotti effetti collaterali.

Una categoria particolare di pazienti di cui è stato studiato il rischio è quella dei soggetti sottoposti a coronarografia, quindi usualmente portatori di una cardiopatia più o meno grave. La disfunzione ventricolare sinistra è risultata un importante fattore di rischio di m. i. in questo gruppo particolare. Assieme alla disfunzione ventricolare sinistra, altri fattori importanti sono: la presenza di lesioni estese a più vasi, i disturbi di conduzione intraventricolare e certe aritmie.

Nella tab. II vengono illustrate le caratteristiche predittive della m. i. nei pazienti con cardiopatia coronarica nota. Queste caratteristiche sono in grado di predire la m. i. sia nei pazienti con infarto sia in quelli senza infarto (con angina o meno). Esiste ovviamente una gerarchia predittiva, che si è solo tentato di illustrare disponendo queste caratteristiche in un certo ordine, dall'alto in basso. Tale disposizione è necessariamente approssimativa ma illustra come la compromissione della funzione contrattile rappresenti un elemento di maggior rilievo, ai fini predittivi, rispetto al numero dei vasi con stenosi coronariche significative o rispetto alle aritmie inducibili durante stimolazione elettrica programmata.

**Defibrillatori impiantabili e nuove strategie per la prevenzione secondaria della morte improvvisa**

Una categoria particolare di pazienti è quella costituita da coloro che sono stati sottoposti a rianimazione in caso di fibrillazione ventricolare (v. FIBRILLAZIONE E FLUTTER*; CARDIOVERSIONE; RIANIMAZIONE) e in assenza di infarto miocardico. Costoro, dopo un *follow-up* di 2-3 anni, risultano predisposti a recidive di fibrillazione e quindi di m. i., 2-3 volte più di quelli che hanno vissuto la stessa esperienza in corso di infarto miocardico in fase acuta. Fin dal 1971 il gruppo di Baltimora guidato da Mirowski ha ideato l'applicazione di un defibrillatore automatico impiantabile con elettrodo epicardico, richiedente una toracotomia per l'impianto in questi pazienti (Mirowski, 1988): in costoro l'uso del defibrillatore impiantabile ha ridotto la mortalità a livelli inferiori al 2% per anno da livelli variabili dal 27 al 66%, osservati in serie storiche precedenti. Oltre 2500 pazienti sono stati sottoposti a tutt'oggi, prevalentemente negli Stati Uniti, a questo tipo di intervento.

Negli ultimi anni i progressi tecnici hanno permesso una notevole miniaturizzazione dei materiali; il defibrillatore automatico impiantabile incorpora oggi funzioni di *sensing* e di *pacing* nonché programmabilità a memoria ed il campo di applicazione si è pertanto notevolmente allargato comprendendo il possibile trattamento non solo della fibrillazione ventricolare ma anche della tachicardia ventricolare e di alcuni tipi di bradicardia. Nel 1988 Winkle ha applicato un nuovo metodo di inserimento dell'elettrodo «defibrillatore» attraverso la vena cava superiore (quindi senza necessità di ricorso alla toracotomia), dimostrando che questa via era praticabile in oltre il 50% dei pazienti entrati in uno studio comparativo tra il nuovo metodo e quello classico richiedente la toracotomia. Nelle mani di Winkle il defibrillatore automatico impiantabile per via percutanea è divenuto un mezzo diretto per prevenire la m. i. ed è concepibile che l'alta percentuale di applicabilità del metodo permetta una ulteriore espansione di questo strumento di prevenzione secondaria (Winkle, 1988). In futuro sarà possibile aggiungere altre funzioni allo strumento: tra queste molto promettente quella di «pompa» per la eventuale somministrazione di farmaci. Queste strategie saranno certamente applicabili a costi accettabili ad un vasto numero di individui ad alto rischio (v. SEGNAPASSI*).

**Bibliografia**


Bigger J. T., Heller C. A. *et al.*, *Am. J. Cardiol.*, 1978, **42**, 202.
Chiang B. N., Perlman L. V. *et al.*, *Circulation*, 1970, **41**, 31.
Giampaoli S., Menotti A., Verdecchia A., dati non pubblicati, 1990.
Gillum R. F., Fortmann S. P., Prineas R. J., Kottke Th. E., *Am. Heart J.*, 1984, **108**, 150.
Goldberg R. J., *Circulation*, 1989, **79**, 1369, *bibl.*
Gottlieb S. H., Ouyang P., Gottlieb S. O., *Am. J. Cardiol.*, 1988, **61**, 7B, *bibl.*
Guarnieri T., Levine J. H., Griffith L. S. C., Veltri E. P., *Am. Heart J.*, 1988, **115**, 205.
Hinkle L. E. jr., Thaler H. T., *Circulation*, 1982, **65**, 457.
Jouve R., Puddu P. E. *et al.*, *J. Electrocardiol.*, 1986, **19**, 155.
Kannel W. B., Doyle J. T. *et al.*, *Circulation*, 1975, **51**, 606.
Keys A. ed., *Circulation*, 1970, **41**, Suppl. 1.
Kulbertus H. E., Wellens H. J. J. eds., *Sudden Death*, in *Developments in Cardiovascular Medicine*, vol. 4, 1980, Martinus Nijhoff, The Hague.
Kuller L., Lilienfeld A., Fisher R., *Circulation*, 1966, **34**, 1056.
Lanti M., Puddu P. E., Menotti A., *Am. J. Cardiol.*, 1990, **66**, 1181.
Lown B., *Cardiovascular Collapse and Sudden Cardiac Death*, in: Braunwald E. ed. *Heart Disease. A Textbook of Cardiovascular Medicine*, 1980, Saunders, Philadelphia, p. 778.
Martin G. J., Magid N. M. *et al.*, *Am. J. Cardiol.*, 1987, **60**, 86.
Menotti A., Puddu V., *Acta Cardiol.*, 1973, **28**, 66.
Menotti A., Seccareccia F., Pasquali M., *Acta Cardiol.*, 1987, **42**, 91.
Mirowski M., Mower M. M., *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1988, **11**, 371.
Nomenclature and Criteria for Diagnosis of Ischemic Heart Disease, *Circulation*, 1979, **58**, 607.
Oliver M. F., in Beretta Anguissola A., Puddu V. eds., *Cardiologia d'oggi*, 1976, Edizioni Medico Scientifiche, Torino, p. 109.
Prineas R. J., Blackburn H. eds., *Circulation*, 1975, **52** (Suppl. III), *bibl.*
Puddu P. E., Lanti M., Reale A., *Cardiologia*, 1986, **31**, 5, *bibl.*
WHO, *Hypertension and Coronary Heart Disease: Classification and Criteria for Epidemiological Studies*, I Rep. of the Expert Committee on Cardiovascular Diseases and Hypertension, WHO Techn. Ser. n. 168, 1959.
WHO, *Myocardial Infarction. Community Registers*, 1976, Regional Office for Europe, WHO (Public Health in Europe: 5), Copenhagen.
WHO, *The Pathological Diagnosis of Acute Ischaemic Heart Disease*, Rep. of a WHO Scientific Group, WHO Techn. Ser. n. 441, 1979.
Winkle R. A., Bach S. M. jr. *et al.*, *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1988, **11**, 365.


ALESSANDRO MENOTTI E PAOLO EMILIO PUDDU

## MOTILINA

F. *motiline*. - I. *motilin*. - T. *Motilin*. - S. *motilina*.

**Definizione e biochimica**

Con il termine motilina (m.) viene indicata una sostanza, purificata inizialmente dal tratto intestinale prossimale del maiale, capace di stimolare l'attività motoria dello stomaco e di liberare la secrezione di pepsina ma non di acido.

La struttura completa della m. è stata identificata nel 1973 e consiste in un polipeptide lineare di 22 aminoacidi con un p. m. di 2700. La m. del cane differisce in termini di immunoreattività da quella del maiale per la diversità dei residui aminoacidici in posizione 7, 8, 12, 13, 14. Cromatograficamente sono state identificate, ma non ancora caratterizzate, forme molecolari di maggiori dimensioni. Due forme di immunoreattività simil-m. sono state estratte dal cervello. La m. di sintesi e gli analoghi 13-*Leu* e 13-N-*Leu* mantengono intatta l'intera azione biologica della sostanza naturale.





Digitized by Google

L'intera molecola è necessaria per ottenere la completa attività biologica perché le sequenze 1-6 e 12-22 non hanno effetto sull'attività motoria gastrica e la sostituzione anche di un solo residuo aminoacidico comporta una diminuzione di circa 300 volte dell'attività della sostanza.

L'emivita plasmatica della m. è di circa 4,5 min; essa è metabolizzata in gran parte, ma non esclusivamente, a livello renale ed infatti la concentrazione plasmatica di m. è elevata nei pazienti con insufficienza renale. L'identica risposta biologica dopo somministrazione della m. per via sistemica e portale indica che il ruolo del metabolismo epatico è trascurabile.

**Localizzazione anatomica**

La m. è presente essenzialmente nella mucosa della parte prossimale dell'intestino tenue, ma la identificazione delle cellule che la producono e la loro localizzazione sia nell'ambito, che al di fuori, dell'apparato gastroenterico non sono del tutto chiarite. Nell'uomo le più alte concentrazioni di m. sono state trovate nelle cellule enterocromaffini a livello del duodeno e, in quantità decrescente, del digiuno e dell'ileo; in minore misura nello stomaco. Nessuna attività è stata trovata nell'esofago, nel pancreas, nel colon, nel fegato e nel S.N.C. In diverse specie di mammiferi la m. è stata trovata in cellule non enterocromaffini distribuite in vari tratti del tubo digerente e non concentrate, in particolare modo a livello duodenale; elevate concentrazioni di m. sono state riscontrate nel cervello, nell'ipofisi e nella ghiandola pineale del cane.

**Fisiologia**

I livelli plasmatici di m. si innalzano durante il digiuno in stretta relazione, e spesso totale coincidenza, con l'inizio della fase III del complesso motorio interdigestivo del duodeno. A digiuno i picchi plasmatici di m. compaiono ciclicamente ogni 90-120 min, con lo stesso andamento ciclico del complesso motorio interdigestivo ed i valori plasmatici sono 2-3 volte più elevati durante la fase III che durante la fase I e II del complesso motorio. L'ingestione di un pasto standard bilanciato non stimola la liberazione di m. e anzi interrompe l'andamento ciclico sia dell'attività motoria che delle variazioni plasmatiche di m. La m. si innalza dopo infusione intraduodenale di acido e ingestione di lipidi e diminuisce dopo alcalinizzazione duodenale e ingestione di alcali. Le concentrazioni plasmatiche di m. si innalzano con l'arrivo del succo biliopancreatico nel duodeno, con l'infusione endovenosa di lipidi e con la somministrazione endovenosa di bombesina. Esse diminuiscono con la somministrazione endovenosa di aminoacidi e glicoso e con la somministrazione endovenosa di secretina e somatostatina.

La liberazione di m. sembra essere sotto il controllo di un meccanismo nervoso colinergico e la somministrazione di atropina ed esametonio impedisce la comparsa dei picchi ciclici a digiuno.

**Effetti**

*In vitro* la m. stimola la muscolatura gastrica ed intestinale con un meccanismo diretto che può essere inibito dalla somministrazione del calcioantagonista verapamile.

*In vivo* la somministrazione endovenosa di m. in condizioni di digiuno determina la comparsa di una fase III del complesso motorio a livello del tratto antroduodenale che si propaga distalmente nel tenue con caratteristiche uguali ai complessi motori spontanei; a digiuno essa causa un aumento del tono dello sfintere esofageo inferiore e contrazioni gastriche che sono parzialmente inibite dalla somministrazione di atropina e totalmente abolite dopo somministrazione di atropina ed esametonio, indicando che l'azione si svolge stimolando i neuroni colinergici pregangliari. L'aumento dell'attività motoria gastrointestinale indotto da m. si accompagna ad aumento della contrattilità colecistica e dell'attività fasica dello sfintere di Oddi, nonché ad aumento della secrezione pancreatica, di quella di pepsina e del cloro della mucosa digiunale, effetti questi che si riscontrano ciclicamente in relazione alla fase III del complesso motorio interdigestivo. Esiste quindi una stretta associazione tra gli aumenti ciclici della motilinemia e la comparsa della fase III del complesso motorio interdigestivo a livello del tratto gastroduodenale, ma non digiunoileale. La immunoneutralizzazione della m. endogena circolante con infusione di siero antimotilina causa un'interruzione dell'attività motoria ciclica interdigestiva a livello del tratto gastroduodenale ma non digiunoileale. Alla luce di queste osservazioni si ritiene che la liberazione di m. sia un fattore primario per l'attivazione della fase III nel tratto gastrointestinale prossimale.

La somministrazione di m. dopo assunzione di cibo ha scarsi effetti sull'attività motoria intestinale e dello sfintere esofageo inferiore, mentre discordanti sono i suoi effetti sullo svuotamento gastrico dei liquidi e dei solidi nel cane e nell'uomo.

Al di fuori del tratto gastrointestinale la m. eccita e depolarizza i neuroni corticospinali del ratto e degli anfibi, inoltre stimola l'appetito, la liberazione di GH e inibisce, tramite il S.N.C., la contrazione vescicale.

Non sono note situazioni cliniche causate da eccesso o difetto di m.

**Bibliografia**


Brown J., Mutt V., Dryburgh J., *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1971, **49**, 399.
Fox J., *Life Sci.*, 1984, **35**, 695-706.
Itoh Z., Aizawa I. *et al.*, *Scand. J. Gastroenterol.*, 1981, **39** (Suppl. 11), 93-110.
O'Donohue T., Beinfeld M. *et al.*, *Peptides*, 1981, **2**, 467-477.
Poitras P., Reeve J. jr. *et al.*, *Reg. Peptides*, 1983, **5**, 197-208.
Sarna S., Chey K. *et al.*, *Am. J. Physiol.*, 1983, **245**, G277-G283.
Walsh J. H., *Gastrointestinal hormones*, in *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, 1985, 2 ed., vol. 1, Johnson L. R., Raven Press, New York.
Wunsch E., *Scand. J. Gastroenterol.*, 1976 (Suppl. 11), **39**, 19.


ENRICO CORAZZIARI

## MUCOVISCIDOSI [v. vol. IX, col. 2100]

SOMMARIO



**Introduzione e incidenza**

La mucoviscidosi [m.] o malattia fibrocistica del pancreas [FC] è la più frequente e grave malattia genetica, autosomica recessiva, delle popolazioni di origine caucasica. La prevalenza è di 1 malato ogni 2000 nati vivi e la frequenza dei portatori è di circa 1 su 23 nella popolazione generale (McKusick, 1988). In Italia i portatori sono circa 3 milioni e agli attuali livelli di natalità (circa 550.000 neonati) nascono ogni anno 300 malati. Il quadro clinico, conseguente alla congenita disfunzione degli epiteli secernenti, è rappresentato nelle forme tipiche da iperconcentrazione elettrolitica nel sudore (100% dei casi), pneumopatia cronica evo-



Digitized by Google

lutiva (95% dei casi) e insufficienza esocrina del pancreas (85% dei casi alla nascita) e caratterizza la malattia come polisistemica.

L'evoluzione è per lo più progressiva e conserva tuttora caratteri di letalità. La prognosi, infatti, permane grave ed è legata all'irrefrenabile progredire dell'infezione polmonare che nel tempo diviene persistente e finisce col risultare incontrollabile anche con la più intensa e assidua antibioticoterapia, rendendo inevitabile la comparsa di lesioni anatomofunzionali respiratorie incompatibili con la vita.

**Cronologia delle principali acquisizioni**

Nella tab. I è riportata la cronologia delle fondamentali acquisizioni sulla m. (v. anche MUCOVISCIDOSI, IX, 2101).

Nel 1952 Carter definì la natura genetica della malattia che si trasmette tramite un gene mutante autosomico recessivo. Nel 1953 Di Sant'Agnese *et al.* descrissero il «test del sudore» con il quale è possibile la diagnosi certa mediante la constatazione della eccessiva perdita di sali di $Cl^-$ e $Na^+$ nel sudore dei malati.

Nel 1979 (Crossley e Elliot) è stato descritto un metodo affidabile che permette lo *screening* neonatale e la diagnosi precoce mediante il dosaggio della tripsina immunoreattiva (IRT) su goccia di sangue essiccato. Nel malato la IRT è 5-10 volte più elevata che nel normale in rapporto al passaggio di enzimi pancreatici nella circolazione fetale in conseguenza di un danno ostruttivo ai dotti pancreatici.

Nel 1983 è stata introdotta la diagnosi prenatale di m. mediante il dosaggio biochimico nel liquido amniotico di alcuni enzimi derivati dai microvilli intestinali fetali (Carbans *et al.*). Nel 1985 sono state effettuate le prime diagnosi prenatali di m. con metodo molecolare (Boué e Brock).

Sempre nel 1985 è stato identificato il gene della m. nel braccio lungo del cromosoma 7 (Knowlton *et al.*; Wainwright *et al.*; White *et al.*).

Nel 1989 è stata descritta la sequenza del gene della m. (Kerem *et al.*; Riordan *et al.*; Rommens *et al.*).

Tra il 1989 e il 1990 vengono identificati il CFTR (*Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator*) e la mutazione *ΔF508* (Kerem *et al.*, 1989; Riordan *et al.*, 1989; Drum *et al.*, 1990; Gregory *et al.*, 1990; Rich *et al.*, 1990).

Si arricchiscono così le conoscenze fondamentali sulle caratteristiche genetiche, cliniche e diagnostiche che hanno permesso di approfondire con acquisizioni fondamentali molti caratteri della m. e di fare ulteriori progressi su nuove e solide basi scientifiche, verso la risoluzione degli interrogativi tuttora irrisolti del rapporto tra il gene mutante e l'errore metabolico (proteina abnorme) patogeneticamente responsabile delle manifestazioni fenotipiche della m. Inoltre sono state poste le basi per sviluppare nel (prossimo) futuro programmi di diagnosi prenatale e consulenza genetica popolazionistica (identificazione dell'eterozigote) oltre che più concrete possibilità di terapia genetica (v. sotto).

**Bibliografia**

Andersen D. H., *Am. J. Dis. Child.*, 1938, **56**, 344.
Blackfan K. D., May C. D., *J. Pediatr.*, 1938, **13**, 627.
Brock D. J. H. *et al.*, *Lancet*, 1985, **1**, 1175.
Carbans N. J., Gosden C. *et al.*, *Lancet*, 1983, **1**, 329.
Carter C. O., *Fibrocystic Disease of the Pancreas*, 1952, Heinemann, London, p. 50.
Crossley J. R., Elliot R. B., *Lancet*, 1979, **1**, 472.
Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium, *Am. J. Hum. Genet.*, 1990, **47**, 359.
Di Sant'Agnese P. M., Darling R. C. *et al.*, *Pediatrics*, 1953, **12**, 549.
Drum M. L. *et al.*, *Cell*, 1990, **62**, 1227.
Fanconi G., Vehlinger E. *et al.*, *Wien Med. Wochenschr.*, 1936, **86**, 753.
Farber S. J., *Mich. Med. Soc.*, 1954, **44**, 587.
Farral M., Law H. Y. *et al.*, *Lancet*, 1986, **1**, 1402.
Garrod A. E., Hurtley W. A., *Or. J. Med.*, 1982, **6**, 242.
Gregory R. J. *et al.*, *Nature*, 1990, **347**, 382.
Kerem B., Rommens J. M. *et al.*, *Science*, 1989, **245**, 1073.
Knowlton R. G. *et al.*, *Nature*, 1985, **318**, 380.
Landsteiner K., *Zentralbl.*, 1905, **16**, 903.
McKusick V. A., *Mendelian Inheritance in Man*, 1988, 8 ed., Johns Hopkins University Press, Baltimore, London.
Rich D. P. *et al.*, *Nature*, 1990, **347**, 358.
Riordan J. R., Rommens J. M. *et al.*, *Science*, 1989, **245**, 1066.
Rommens J. M., Iannuzzi M. C. *et al.*, *Science*, 1989, **245**, 1059.
Tsui L.-C. *et al.*, *Science*, 1985, **230**, 1054.
Wainwright B. J. *et al.*, *Nature*, 1985, **318**, 384.
White R. *et al.*, *Nature*, 1985, **318**, 382.

MARIANO ANTONELLI

**Genetica della mucoviscidosi**

Le conoscenze sui fondamentali aspetti del carattere genetico della m. si sono accumulate lentamente in un quarantennio e derivano tutte fino a tempi recentissimi in modo indiretto dallo studio delle caratteristiche epidemiologiche e fenotipiche della malattia.

Così è stato possibile stabilire che la malattia è dovuta a un errore metabolico congenito ad espressività razziale (popolazioni di origine caucasica) e familiare, trasmesso al momento del concepimento come tratto autosomico recessivo in doppia dose da due eterozigoti ciascuno con un singolo allele mutante. Stime comparate concordano per una incidenza di 1 malato ogni 2000 nati vivi con variazioni decrescenti dal Nord al Sud dell'Europa (European Wor-

TAB. I. CRONOLOGIA DELLE ACQUISIZIONI SULLA FIBROSI CISTICA (FC)

| | | |
|---|---|---|
| 1912 | Garrod | Famiglia con steatorrea congenita |
| 1928/36 | Fanconi | Affezione diversa dalla celiachia |
| 1938 | Blackfan e May | Conferma istologica |
| 1938 | Andersen | Descrizione clinica dettagliata |
| 1952 | Carter | Trasmissione genetica della malattia |
| 1953 | Di Sant'Agnese *et al.* | Test del sudore iperconcentrato |
| 1979 | Crossley e Elliot | *Screening* neonatale mediante il dosaggio dell'IRT |
| 1983 | Carbans *et al.* | Diagnosi prenatale enzimatica sul liquido amniotico |
| 1985 | Knowlton R. G. *et al.*; Wainwright *et al.*; White *et al.* | Collocazione del gene della FC nel braccio lungo del cromosoma 7 |
| 1986 | Boué e Brock | Diagnosi prenatale molecolare |
| 1989 | Kerem *et al.*; Riordan *et al.*; Rommens *et al.* | Isolamento, descrizione della sequenza e clonaggio del gene della FC |
| 1989-1990 | Kerem *et al.*, 1989; Drum *et al.*, 1990; Gregory *et al.*, 1990; Rich *et al.*, 1990 | Scoperta della mutazione *ΔF508* |



Digitized by Google

**TAB. II. RISCHIO DI GENERARE UN BAMBINO CON MUCOVISCIDOSI**

| Un genitore | Altro genitore | Rischio di mucoviscidosi in ogni gravidanza |
|---|---|---|
| Genitore di bambino affetto | Genitore di bambino affetto | 1/4 |
| Zio 1° grado di bambino affetto | Zio 1° grado di bambino affetto | 1/16 |
| *Paziente affetto | Paziente malato | 4/4 |
| *Paziente affetto | Senza parentela con malattia | 1/44 |
| Cugino 1° grado di bambino affetto | Cugino 1° grado di bambino affetto | 1/64 |
| Genitore di bambino affetto | Nuovo partner senza parentela con pazienti affetti | 1/88 |
| Fratello di bambino affetto | Senza parentela con pazienti affetti | 1/132 |
| Zio 1° grado di bambino affetto | Senza parentela con pazienti affetti | 1/176 |
| Cugino 2° grado di bambino affetto | Cugino 2° grado di bambino affetto | 1/256 |
| Nipote 1° grado di bambino affetto | Senza parentela con pazienti affetti | 1/264 |
| Cugino 1° grado di bambino affetto | Senza parentela con pazienti affetti | 1/352 |
| Cugino 2° grado di bambino affetto | Senza parentela con pazienti affetti | 1/704 |
| Senza parentela con pazienti affetti | Senza parentela con pazienti affetti | 1/2000 |

* Nei rari casi in cui il maschio sia fertile.

king Groups, 1990), il ehe è in accordo con i citati dati di McKusiek.

Gli eterozigoti (portatori sani) sono il 5% (circa) della popolazione in un rapporto di circa 100 per ogni malato. La frequenza dell'allele mutante è stata calcolata di 0,022. In altri gruppi razziali la malattia, seppur presente, è marcatamente meno frequente.

Nei negri americani l'incidenza è di 1 malato ogni 17.000 nati vivi, la frequenza genica di 0,0077 e l'incidenza degli eterozigoti di 1,5; mentre negli orientali la frequenza dei malati è calcolata di 1 : 90.000, la frequenza genica pari a 0,0033 e l'incidenza degli eterozigoti di 0,6.

L'alta frequenza degli eterozigoti, per ora non identificabili, comporta per essi un alto rischio di incontrarsi (1 ogni 480 coppie) e spiega la ragione dell'alta frequenza della malattia. È possibile comunque calcolare il rischio ehe nasca un bambino malato da soggetti a seconda del loro grado di parentela con affetti da m. (tab. II).

Negli ultimi cinque anni le conoscenze sulle caratteristiehe genetiche della m. si sono rapidamente arricchite portando alla localizzazione del gene responsabile sul braccio lungo del cromosoma 7, nella regione 7q31, comprendente circa 1-2 milioni di paia di basi (Knowlton *et al.*, 1985; Wainwright *et al.*, 1985) e alla identificazione della sequenza genica (Kerem *et al.*, 1989; Riordan *et al.*, 1989; Rommens *et al.*, 1989).

Le ricerche, iniziate negli anni '70, erano rese difficili dal fatto che era sconosciuto il difetto metabolico cioè la proteina alterata, causa della malattia.

Pattendo da DNA estratto da sangue di malati e di loro famiglie e utilizzando numerose endonucleasi di restrizione (enzimi che tagliano la molecola di DNA in siti specifici che corrispondono a precise sequenze di basi) si sono ottenuti numerosi e distinti frammenti polimorfici, alcuni dei quali sono stati usati come sonde (*probes*) per analizzare il materiale genetico dei malati di m. (Boué e Brock, 1985; Brock, 1985; Ferrari *et al.*, 1990).

Se una di queste sonde è situata sul cromosoma in forte associazione (*linkage*) col gene della FC si può dedurre che essa è stata trasmessa congiuntamente al gene stesso. Con l'analisi statistica dell'incidenza della co-eredità del gene della FC mutante e delle diverse sonde in *linkage* con esso, nelle famiglie con m. è stato possibile calcolare la loro vicinanza relativa sulla molecola di DNA.

Utilizzando un certo numero di polimorfismi in *linkage* sempre più stretto si è giunti a localizzare il gene della FC sul braccio lungo del cromosoma 7 (Knowlton *et al.*, 1985; Wainwright *et al.*, 1985) sulla banda q31 tra il *locus* dell'oncogène *met* e quello della sonda pf3.11. Stabilito ehe il gene mutante era sul cromosoma 7 utilizzando strategie di genetica all'inverso, utili per identificare geni a funzione sconosciuta e seguendo l'approccio del «camminare o saltare» (*walking or jumping*) lungo il DNA del cromosoma 7 (Rommens *et al.*, 1989) si è giunti a clonare il gene della FC (Kerem *et al.*, 1989; Riordan *et al.*, 1989) e a descrivere la struttura del gene mutante che codifica una proteina costituita da una catena di 1480 aminoacidi, nella quale è presente la delezione di 3 paia di basi con perdita di un singolo codone corrispondente ad una fenilalanina (delezione *ΔF508*). Questa mutazione (*ΔF508*) impedisce la formazione di adenosintrifosfato (ATP) e quindi dell'energia necessaria all'attività delle cellule e specificatamente di quelle connesse con il trasporto degli anioni $Cl^-$ attraverso le membrane epiteliali (Drum *et al.*, 1990; Gregory *et al.*, 1990; Rich *et al.*, 1990).

L'analisi della distribuzione nella popolazione della mutazione *ΔF508* ha messo in evidenza ebe essa è più frequente nei malati con insufficienza pancreatica (78%) rispetto a quelli con pancreas funzionante (36%) (Kerem *et al.*, 1989). La differenza genetica fra questi sottogruppi era stata già segnalata nella popolazione italiana sulla base dello studio degli aplotipi associati alla malattia (Ferrari *et al.*, 1990; Gasparini *et al.*, 1990).

La mutazione *ΔF508* dà origine a una malattia completa a espressione fenotipica grave quando è presente in doppia copia (mutazione S). I malati con sufficienza pancreatica presentano una singola mutazione (mutazione M) associata però ad eterozigosi composta.

La frequenza della mutazione principale (*ΔF508*) e la sua diffusione secondo un gradiente est/nord-ovest è compatibile con una sua comparsa più recente nel Nord Europa mentre nell'Europa Meridionale una più antica persistenza della stessa mutazione ha fornito il tempo necessario per la sua ricombinazione con altri aplotipi. Tra questi ultimi l'aplotipo B è il più frequente tra quelli associati con la mutazione *ΔF508* nei malati con insufficienza pancreatica mentre l'aplotipo A è associato alle mutazioni non *ΔF508* nei malati con sufficienza pancreatica (European Working Group, 1990).

Queste osservazioni sono indicative di una correlazione tra l'aplotipo B e la gravità delle manifestazioni fenotipiche determinate dalla mutazione M. Dal punto di vista genetico ciò significa ehe esistono numerose mutazioni diverse dalla *ΔF508* e che i malati con pancreas funzionante (elinicamente normale) sono eterozigoti composti in quanto portatori di due mutazioni diverse nel gene della FC. Questa



Digitized by Google

osservazione è particolarmente utile ai fini della prognosi cioè della evoluzione della gravità della malattia (espressione fenotipica) che è meno grave nei malati senza insufficienza pancreatica (mutazione M).

Al contrario, quando la mutazione *ΔF508* è presente in doppia dose (mutazione S) allora si ha la forma meno favorevole della malattia.

L'analisi diretta delle sequenze del DNA dei malati amplificata con la tecnica della PCR (*Polymerase Chain Reaction*) ha permesso di descrivere finora oltre 90 mutazioni diverse nel gene della FC. Di queste però solo poche, anche nella popolazione italiana, raggiungono frequenze significative e con distribuzione molto disomogenea: G542x = 12% e N1306k (Lazio); 1777-1G = 20% (Lombardia); R1172x = 16% (Veneto); Y112 = 7,21%, Q39 = 7,14%, utili per la diagnosi prenatale e per l'identificazione dell'eterozigote.

**Bibliografia**

Boué A., Brock D. J. H., *Lancet*, 1985, **1**, 47.
Brock D. J. H., *Lancet*, 1985, **1**, 215.
Drum M. L. *et al.*, *Cell*, 1990, **62**, 1227.
European Working Group on CF Genetics, *Hum. Genet.*, 1990, **85**, 436-445.
Ferrari M., Antonelli M. *et al.*, *Hum. Genet.*, 1990, **84**, 435.
Gasparini P., Novelli G. *et al.*, *J. Med. Genet.*, 1990, **27**, 17.
Gregory R. J. *et al.*, *Nature*, 1990, **347**, 382.
Kerem B., Rommens J. M. *et al.*, *Science*, 1989, **245**, 1066.
Knowlton R. G. *et al.*, *Nature*, 1985, **318**, 380.
Rich D. P. *et al.*, *Nature*, 1990, **347**, 358.
Riordan J. R., Rommens J. M. *et al.*, *Science*, 1989, **245**, 1066.
Rommens J. M., Iannuzzi M. C. *et al.*, *Science*, 1989, **245**, 1059.
Tsui L. C. *et al.*, *Science*, 1985, **230**, 1054.
Wainwright B. J. *et al.*, *Nature*, 1985, **318**, 384.

MARIANO ANTONELLI

**Patogenesi della mucoviscidosi**

L'osservazione dell'alto contenuto di $Na^+$ e di $Cl^-$ nel sudore dei malati, caratteristica peculiare che permette la diagnosi sicura di m. (v. MUCOVISCIDOSI, IX, 2114), ha stimolato numerosi studi sul trasporto degli elettroliti in questa malattia.

Il razionale delle ricerche si basa sul presupposto di una alterazione del trasporto transmembrana nelle cellule epiteliali di vari tessuti (pancreas, ghiandole sudorifere e ghiandole mucose delle vie respiratorie) coinvolti nella malattia e sede delle alterazioni e dei sintomi propri di essa.

Negli ultimi anni i primi risultati incoraggianti sul difetto molecolare di base della m. sono stati ottenuti da studi eseguiti con tecniche elettrofisiologiche. Con essi è stato per la prima volta possibile precisare che la m. più che una malattia delle ghiandole esocrine in sé, è dovuta a un'alterazione fisiopatologica delle cellule epiteliali specializzate che fanno parte delle ghiandole esocrine (ghiandole sudorifere) o che sono strettamente associate alle ghiandole stesse (vie respiratorie).

La prima conferma è stata fornita dalla documentata incapacità degli ioni $Cl^-$ presenti all'interno delle cellule epiteliali, che tappezzano le vie respiratorie dei malati di m., di attraversare la membrana cellulare e di mantenere l'equilibrio idrico delle vie aeree (Boucher *et al.*, 1984; Knowles *et al.*, 1983). Questo meccanismo spiega perché nella m., specie in condizioni di stress, l'alta quantità di $Na^+$ che viene assorbita dalle vie respiratorie all'interno delle cellule epiteliali e da queste riversata nei vasi adiacenti, non essendo bilanciata dalla fuoriuscita di $Cl^-$, determina la disidratazione delle secrezioni intrabronchiali rendendole dense e viscide.

Analoghi risultati sono stati ottenuti su ghiandole sudorifere isolate e microperfuse. Il dotto escretore di quelle dei malati è risultato scarsamente permeabile al $Cl^-$ con conseguente mancato riassorbimento di $Na^+$ e $Cl^-$ in questa porzione della ghiandola (Quinton, 1983) e conseguente iperconcentrazione elettrolitica del sudore tipica della malattia (fig. 1). Nell'individuo sano, al contrario, durante la sudorazione, il Na viene riassorbito e riversato dalla ghiandola sul circolo ematico per essere riutilizzato, mentre l'acqua viene eliminata attraverso il dotto.

L'evidenza scientifica di questi dati depone per un difetto di funzionamento dei canali del $Cl^-$ proprio negli epiteli dei malati di m. Ulteriori studi sul comportamento del trasporto del $Cl^-$ in risposta a diversi stimoli ormonali hanno messo in evidenza che l'attivazione dei canali del $Cl^-$ con sostanze beta-adrenergiche che passa attraverso la via dell'AMP ciclico è assente nei soggetti con m., mentre l'attiva-

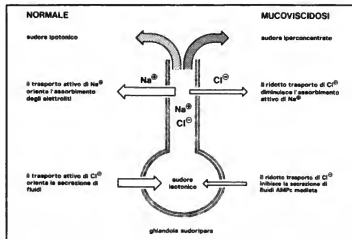



Fig. 1. Alterazioni del trasporto elettrolitico nella m.





Digitized by Google

zione colinergica che utilizza il $Ca^{2+}$ è normale (Sato e Sato, 1984).

Un affinamento di tecnica elettrofisiologica, il *patch-clamp*, che permette di isolare microaree di membrana cellulare (Hamil *et al.*, 1981), ha consentito di stabilire che il difetto colpisce indirettamente i canali del $Cl^-$ a una tappa a valle della produzione di AMP ciclico attraverso l'azione di una proteina inibitrice alterata che impedisce così la normale via di attivazione.

La clonazione del gene mutante ha permesso di identificare la relativa proteina prodotta che è stata chiamata *Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator* (CFTR) (Riordan *et al.*, 1989).

È stata definita, quindi, la struttura del CFTR e in base alla sua sequenza aminoacidica e usando anticorpi monoclonali si è resa possibile la sua localizzazione a livello della membrana delle cellule epiteliali specifiche e sono stati identificati più poli di ancoraggio della proteina; due poli risulterebbero deputati al legame con l'ATP confermando così i risultati di studi precedenti sul ruolo patogenetico di questo enzima (Gregory *et al.*, 1990; Rick *et al.*, 1990).

Ulteriori importanti elementi emersi dal confronto della sua struttura con quella di altre proteine di membrana hanno permesso l'individuazione nel CFTR di caratteristiche che conferiscono funzioni di trasporto probabilmente con il ruolo di trasferire all'interno o all'esterno delle cellule un substrato a sua volta deputato ad attivare o inibire il canale del $Cl^-$.

In sintesi, le ghiandole sudorifere della m. presentano un ridotto trasporto del $Cl^-$ nei dotti con conseguente ridotto assorbimento di fluidi dal lume duttale mentre nella parte secretrice il ridotto trasporto di $Cl^-$ inibisce la secrezione di fluidi mediata dall'AMP ciclico. Il risultato è che nella m. il sudore non è più ipotonico ma si avvicina a valori isotonici.

Anche il succo pancreatico nella m. è caratterizzato da una ridotta secrezione di anioni con conseguente disidratazione delle secrezioni esocrine e blocco dei dotti (Kopelman e Durie, 1985).

In conclusione, i risultati degli studi più recenti su vie respiratorie, ghiandole sudorifere e pancreas concordano su un difetto di trasporto transepiteliale del $Cl^-$.

**Bibliografia**

Boucher R. C., Knowles M. R. *et al.*, in Lawson D. eds., *Cystic Fibrosis Horizons*, 1984, Wiley, New York, 167.
Gregory R. J. *et al.*, *Nature*, 1990, **347**, 382.
Hamill O. P., Marty A. *et al.*, *Pfluegers. Arch.*, 1981, **391**, 95.
Knowles M., Strutts M. *et al.*, *Science*, 1983, **221**, 1067.
Kopelman H., Durie P., *N. Engl. J. Med.*, 1985, **312**(6), 329.
Li M., McCann J. D. *et al.*, *Nature*, 1988, **331**, 338.
Quinton P. M., *Nature*, 1983, **301**, 358.
Rick D. P. *et al.*, *Nature*, 1990, **347**, 358.
Riordan J. R. *et al.*, *Science*, 1989, **245**, 1059.
Sato K., Sato F., *J. Clin. Invest.*, 1984, **73**, 1763.

MARIANO ANTONELLI

**Applicazioni diagnostiche e terapeutiche del clonaggio del gene della mucoviscidosi**

Le informazioni e le conoscenze fornite dagli studi di genetica che hanno portato al clonaggio del gene della FC offrono notevoli opportunità di applicazioni immediate e vantaggi di uso pratico. La più importante è la possibilità di estendere la diagnosi prenatale oltre che ai nascituri delle famiglie a rischio, come finora è stato realizzato mediante la ricostruzione dell'aplotipo a rischio, anche ad altri individui mediante un approccio diretto basato sulla ricerca delle mutazioni responsabili della malattia.

Naturalmente questa possibilità è tanto maggiore quanto minore è il numero delle mutazioni (come nei paesi scandinavi) presenti in una popolazione; inoltre, inizia ad essere possibile e utile lo *screening* per identificare i portatori con la prospettiva di realizzare la prevenzione primaria.

Data l'alta frequenza dei portatori (1/20) nelle popolazioni nelle quali le mutazioni significative, cioè con frequenza superiore all'1%, da esaminare sono presenti in numero limitato, uno *screening* di tale genere secondo tecniche di genetica molecolare consente un rapporto costo/beneficio sicuramente positivo. Ciò è facilitato dal metodo della *Polymerase Chain Reaction* (PCR; v.*) (Wolfe e Malone, 1990) che permette di amplificare in laboratorio, in modo rapido, accurato e a basso costo, più copie delle sequenze del DNA candidate a contenere la mutazione M.

Un programma di *screening* degli eterozigoti è stato avviato in Danimarca (Kock, 1990) dove la mutazione *ΔF508* è presente nell'85% della popolazione generale ed è possibile identificare il 90% dei portatori. Analoghi programmi sono previsti in Gran Bretagna (Watson e Williamson, 1990) nella cui popolazione le tre mutazioni più frequenti sono presenti nell'85% dei cromosomi dei malati ed è possibile identificare quindi l'85% dei portatori presenti nella popolazione generale.

L'alta eterogeneità allelica presente nelle popolazioni dell'Europa del Sud nelle quali la mutazione *ΔF508* è stata trovata in percentuali basse dei malati (50% in Spagna [Nunes *et al.*, 1990] 41-50% in Italia [Antonelli; Gasparini *et al.*, 1990]), non permette al momento l'avvio di analoghi programmi.

Infine diviene possibile chiarire perché il gene della m. letale allo stato omozigote persista così frequentemente allo stato eterozigote nelle popolazioni europee o da esse originate. L'ipotesi del vantaggio selettivo degli eterozigoti viene avvalorata dall'osservazione per cui l'epitelio intestinale dei malati è meno sensibile all'azione delle tossine di patogeni causa di infezioni diarroiche acute (coli, shigelle, etc.) con perdita di sali ($Na^+$; $Cl^-$). Gli eterozigoti conservano così una maggior resistenza all'azione di queste tossine e in passato ciò ha determinato una loro più alta sopravvivenza rispetto alla popolazione generale.

L'importanza di questa caratteristica deriva dal fatto che, fino ad anni recenti, le infezioni diarroiche acute rappresentavano la causa più importante di mortalità in tutte le popolazioni europee, specie nei primi anni di vita. La riprova è affidata alla genetica che attraverso i programmi di *screening* ha il compito di verificare se in larghe popolazioni si riscontra un vantaggio selettivo e significativo dei portatori rispetto ai non portatori.

I progressi della biologia molecolare che hanno permesso il clonaggio del gene mutante hanno aperto anche interessanti prospettive terapeutiche.

La prima via teoricamente possibile è quella della *terapia genica* che mediante la tecnica del DNA ricombinante si basa sul prelievo di cellule da modificare, nell'inserirvi il gene normale e nel ritrapiantare tali cellule geneticamente modificate nel paziente. Tale tecnica di terapia genetica *ex vivo* male si presta alla m. nella quale il bersaglio è il polmone dal quale è difficile pensare di isolare le cellule epiteliali dalle vie respiratorie, portarle in coltura e poi tentare di ripopolare l'albero respiratorio con le cellule modificate, stante il loro lento ritmo di proliferazione.

Più appropriata nella m. è la terapia permessa dalla mutagenesi diretta verso un sito specifico. Con questo approccio di terapia genetica *in vivo* un retrovirus, privato dei geni potenzialmente dannosi e nel quale è stata inserita la sequenza di DNA normale, viene usato come veicolo per introdurre nel genoma dell'ospite il gene normale. Sono già stati eseguiti studi sull'animale con vettori virali corretti e somministrati per via aerosolica nelle vie respiratorie (Watson e Williamson, 1990; Wolfe e Malone, 1990).



Digitized by Google

In uno studio collaborativo diretto da R. G. Crystal (National Institute Health, Bethesda), da M. Perricaudet (Institut Gustave Roussy, Villejuif) e da A. Pavirani (Société Transgène, Strasbourg), Rosenfeld M. A. *et al.* (1991) hanno annunciato di aver indotto nei ratti, mediante l'impiego di un adenovirus (che infetta naturalmente le cellule epiteliali polmonari) in cui è stato inserito il gene per l'$\alpha_1$-antitripsina umana ($\alpha_1$-AT), la secrezione di $\alpha_1$-AT umana, il cui deficit è alla base dell'enfisema polmonare (v.*), malattia genetica con una frequenza allelica da 0,01 a 0,02.

Secondo gli AA. questo studio apre la strada alla possibilità di una terapia genetica della FC, adoperando un vettore (adenovirus) potenzialmente meno pericoloso per l'uomo dei retrovirus.

Restano comunque da superare molte difficoltà, quali:

a) l'individuazione del più appropriato vettore (virus, plasmidi, liposomi) per il trasferimento genico;

b) il controllo dell'avvenuta espressione del gene trasferito e il relativo sistema di controllo;

c) la durata di tale espressione;

d) l'esclusione di possibili effetti collaterali.

Soltanto dopo risposte soddisfacenti a questi quesiti sarà possibile dare il via all'applicazione clinica della terapia genica in malati con m.

**Bibliografia**


Antonelli M., dati non pubblicati.
Carter B. J., Flotte T. R. *et al.*, *Pediatr. Pulmonol.*, 1990, Suppl. 5, p. 104.
Ferrari M., Antonelli M. *et al.*, *Hum. Genet.*, 1990, **84**, 435.
Gasparini P., Savoia A. *et al.*, *Pediatr. Pulmonol.*, 1990, Suppl. 5, p. 205.
Kock C., *Pediatr. Pulmonol.*, 1990, Suppl. 5, p. 108.
Nunes V., Casals T. *et al.*, *Pediatr. Pulmonol.*, 1990, Suppl. 5, p. 204.
Rosenfeld M. A. *et al.*, *Science*, 1991, **252**, 431.
Saiki R. K., Gelfand D. H. *et al.*, *Science*, 1988, **239**, 487.
Watson E. K., Williamson R., *Pediatr. Pulmonol.*, 1990, Suppl. 5, p. 117.
Wolfe J. A., Malone R. W., *Pediatr. Pulmonol.*, 1990, Suppl. 5, p. 106.


MARIANO ANTONELLI

### Aspetti nutrizionali della mucoviscidosi

La malnutrizione, sotto forma di inadeguato accrescimento ponderale e staturale, rappresenta tuttora un aspetto clinico preminente della m. Essa infatti costituisce un carattere di particolare importanza nella gestione del malato e un elemento fondamentale condizionante l'evoluzione della sindrome e la qualità e durata di vita dei malati, per la particolare influenza negativa sulle funzioni respiratorie del bambino nel quale sia l'accrescimento somatico che l'apparato respiratorio sono ancora incompleti e immaturi.

Malgrado il riconoscimento della sua gravità la malnutrizione cronica è stata considerata a lungo una conseguenza inerente alla malattia e un fenomeno naturale di adattamento alla progressione della pneumopatia cronica. Numerose osservazioni fatte nel tempo hanno segnalato però una buona correlazione tra il grado di malnutrizione e il ritmo del declino nelle funzioni respiratorie che a loro volta influivano sulla sopravvivenza generale (Corey *et al.*, 1988).

È stata così avanzata la proposizione per la quale i due fattori, malnutrizione e sopravvivenza, sono collegati da un rapporto di causalità. Ne è derivato che il supporto nutrizionale è ora considerato come parte integrante nel sistema di assistenza ai malati di m., codificando l'istituzione di programmi nutrizionali sempre più accurati mirati a prevenire la malnutrizione. Nel contempo è stato chiarito che la maggior parte dei problemi di accrescimento nei malati di m. è dovuta a un bilancio energetico sfavorevole piuttosto che a fattori inerenti la malattia stessa, come creduto nel passato.

La revisione dei dati forniti da ampie casistiche ha permesso di isolare delle sottopopolazioni di malati in buone condizioni di accrescimento pondero-staturale che presentano curve di sopravvivenza significativamente più elevate degli altri soggetti con gradi variabili di malnutrizione (Antonelli e Pescosolido, 1989).

Inoltre lo studio comparato di consistenti casistiche di diversi centri di assistenza per la m. ha permesso di mettere in evidenza marcate differenze nelle età medie di sopravvivenza a cui corrispondono stridenti differenze nella filosofia delle pratiche dietetiche, con curve di sopravvivenza media più basse registrate in quei centri che applicavano un approccio dietetico tradizionale basato su una dieta ricca di carboidrati e proteine e povera di grassi (Corey e McLaughlin, 1988).

Quindi, in base ai riconosciuti aumentati bisogni energetici dei malati di m., è stato possibile stabilire una correlazione significativa tra apporto calorico e malnutrizione e tra malnutrizione e rapidità di evoluzione della pneumopatia essendo quest'ultima la principale causa di mortalità.

Le componenti e i fattori riconosciuti che contribuiscono alla creazione dello squilibrio energetico alla base della patogenesi della malnutrizione nella m. sono sintetizzati nella fig. 2.

L'insorgenza e la progressione dello squilibrio energetico nella m. sono correlate ad un complesso di numerosi fattori, tra i quali i seguenti spiccano per reciproca interferenza e sommazione.

a) *Aumentate perdite energetiche.* – Nella stragrande maggioranza dei malati con m. è presente una achilia pancreatica, una inadeguata secrezione di bicarbonato e una perdita di acidi biliari che determinano una marcata perdita dei grassi alimentari. Va aggiunto che i sali biliari precipitati escono dal circolo enteroepatico in abbondante quantità riducendo il *pool* totale dei sali biliari e alterando il rapporto glicocolato/taurocolato. Infine, l'eccesso di muco con proprietà fisiche alterate presente nell'intestino dei malati di m. aumenta lo spessore sulla superficie della mucosa intestinale interferendo con l'assorbimento dei nutrienti.

L'insieme di queste alterazioni anatomofunzionali è solo parzialmente corretto con terapia enzimatico-farmacologica.

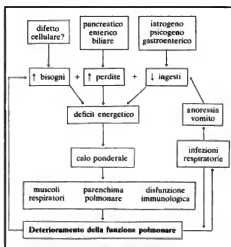



Fig. 2. Patogenesi della malnutrizione nella m.





Digitized by Google

b) *Dispendio energetico aumentato.* – La clinica ha fornito nel tempo una massa considerevole di dati mediante i quali è assodato che i malati di m. presentano aumentati ritmi di dispendio energetico. Tra i meccanismi fondamentali sono stati identificati i seguenti:

1) gravità della insufficienza pancreatica;

2) aumento della attività respiratoria valutato in base al grado di dispnea e frequenza respiratoria a riposo;

3) maggiore dispendio energetico dovuto alla perdita con la espettorazione di quantità variabili di secrezioni ricche di proteine;

4) maggior dispendio energetico dovuto alle sedute di fisiochinesiterapia e alle attività sportive che fanno parte integrante del programma terapeutico dei malati di m.

5) infine, il malato di m. va frequentemente incontro ad infezioni dell'apparato respiratorio che comportano perdita dell'appetito e maggiore dispendio energetico legato e proporzionato alla febbre.

Il fabbisogno energetico dei malati è stato così dimostrato essere in media del 30-50% più alto dei coetanei dello stesso sesso sani, ciò in base a studi di calorimetria indiretta che hanno messo in evidenza che anche il dispendio energetico a riposo nei malati di m. è superiore (fino al 150%) ai valori normali predetti per sesso, età e peso.

Dagli stessi studi è emerso che l'aumentato dispendio energetico a riposo è correlato in senso negativo con le funzioni polmonari e lo stato nutrizionale e che esso è tanto più alto quanto più avanzata è la pneumopatia.

c) *Ridotto apporto energetico.* – Studi recenti hanno permesso di stabilire che per garantire un bilancio energetico positivo, il fabbisogno deve raggiungere nei malati di m. il 130-150% delle RDA (*Recommended Dietary Allowances*). In particolare è stato osservato che l'apporto energetico è particolarmente basso nei soggetti con complicazioni, specie respiratorie, e nei quali si registra una diminuzione dell'appetito.

Limitazioni al raggiungimento dell'apporto energetico necessario sono inoltre determinate da una serie di complicazioni, quali l'esofagite, frequente specie nei casi con pneumopatia avanzata e che causa dolore, anoressia e vomito specie durante la tosse. Anche la sindrome da ostruzione intestinale distale (*ileus equivalent*) determinando una ostruzione subacuta, causa dolori addominali ricorrenti, crampiformi, esacerbati dai pasti. Anche le calcificazioni pancreatiche, le calcolosi biliari, l'epatopatia grave e la stipsi si associano a disturbi addominali e a riduzione dell'apporto energetico. Infine le infezioni respiratorie acute e ancora più le infezioni respiratorie persistenti determinano anoressia e talora sindromi da depressione psichica che, specie negli adolescenti e negli adulti, comportano anoressia grave.

*Rapporto tra malnutrizione e pneumopatia.* – Le numerose variabili interdipendenti, prima descritte, contribuiscono all'insorgenza ed al mantenimento della malnutrizione cronica dei pazienti affetti da m. Con adeguati provvedimenti la malnutrizione può essere prevenuta finché non sopraggiunge una pneumopatia grave da cui deriva una stretta interrelazione tra malnutrizione e declino delle funzioni polmonari.

Il peggioramento della malattia respiratoria fa emergere una serie di fattori predisponenti all'insorgere e all'aggravarsi del deficit energetico e alla malnutrizione conseguente. Tra questi spiccano la frequenza e la gravità delle infezioni respiratorie come causa di anoressia e di vomito che a loro volta riducono l'apporto energetico. Le infezioni, inoltre, fanno aumentare il fabbisogno energetico in proporzione al supplementare sforzo respiratorio.

Il bilancio energetico negativo che ne deriva determina perdita di peso progressiva che inizia con la perdita di tessuto adiposo ma è seguita, con il tempo, dalla perdita di massa magra e da distruzione muscolare (Sahebjami e Vassallo, 1979). Quest'ultima coinvolge anche i muscoli respiratori indebolendo la ventilazione e l'energia della tosse esitando in un ulteriore deterioramento della funzione polmonare.

Va aggiunto che la malnutrizione influenza negativamente l'elasticità polmonare (*compliance*) e numerosi aspetti della funzione immunitaria; in particolare si è osservata una diminuzione delle IgA nelle secrezioni respiratorie, una diminuzione dei macrofagi alveolari e del complemento (Chandra e Newberne, 1977).

Tutti questi fattori sommandosi contribuiscono ad aggravare la pneumopatia creando un circolo vizioso ed interdipendente con la malnutrizione.

La pneumopatia grave evolve più o meno rapidamente verso l'insufficienza respiratoria che corrisponde al sommarsi della diminuzione della superficie di parenchima funzionante, della ingravescente debolezza dei muscoli respiratori causata a sua volta dalla riduzione della massa muscolare (area, lunghezza, spessore delle fibre) e della forza da essi utilizzabile (per la descrizione analitica del coinvolgimento dell'apparato respiratorio, v. MUCOVISCIDOSI, IX, 2106-2111).

La dietoterapia si basa su raccomandazioni che promuovono:

l'assunzione stabile di una dieta ipercalorica senza riduzione di grassi (salvo quelli animali) inframezzando i pasti con numerosi spuntini, fino a raggiungere il 130-150% della RDA;

l'assunzione costante e regolare di dosi adeguate di enzimi pancreatici ad alta titolazione;

l'eventuale supplementazione con miscele di nutrienti in formulazione elementare ad alta densità calorica (1-1,5 kcal/ml).

Infine, in condizioni di grave pneumopatia o di insufficienza respiratoria, è pressoché costante la necessità di una dieta assistita e ipercalorica da somministrare per via enterale o parenterale.

**Bibliografia**

Antonelli M., Pescosolido S. R. *et al.*, *Atti 4° Corso di Aggiornamento in Dietoprofilassi e Dietoterapia: Problemi Nutrizionali nelle Malattie Metaboliche Acquisite e Congenite*, 1989, p. 75-87.
Chandra R. K., Newberne P.M. eds., *Nutrition, Immunity and Infection*, 1977, Plenum Press, New York.
Corey M. *et al.*, *J. Clin. Epidemiol.*, 1988, **41**, 588.
Sahebjami H., Vassallo C. L., *Am. Rev. Resp. Dis.*, 1979, **119**, 443.

MARIANO ANTONELLI

**Mucoviscidosi ed epatopatia**

Il sistema epatobiliare è uno dei più coinvolti nell'evoluzione clinica della m. Le alterazioni descritte e individuate nel tempo sono numerose e alcune sono state riconosciute specifiche della m. in un susseguirsi che può sfociare nella peculiare cirrosi biliare multilobulare (Balistrieri, 1990) che costituisce il quadro di epatopatia più grave e che esita nell'ipertensione portale con sviluppo di varici esofagee.

La patogenesi della malattia epatobiliare nella m. è complessa e non completamente chiarita.

Altre lesioni epatobiliari risultano essere secondarie alla patologia extraepatica o sono state osservate con frequenza crescente nel corso della malattia contribuendo a costituire un ampio spettro di quadri attraverso i quali passa l'epatopatia.

I numerosi quadri clinici potenzialmente evolutivi della epatopatia della m. hanno posto numerosi interrogativi concernenti: il rischio e la reale incidenza delle forme di epatopatia; i rapporti tra le diverse lesioni; se esse sono concomitanti, coincidenti o susseguenti; la patogenesi delle singole lesioni.

Le ultime acquisizioni hanno messo in risalto il ruolo preminente della colestasi come fattore patogenetico. Inoltre, recenti ricerche hanno permesso di stabilire che i calcoli biliari non sono di natura colesterolica come ritenuto in base alla loro radiotrasparenza (Angelico e Antonelli, 1991).

Sul fronte delle scelte terapeutiche nuove prospettive sono offerte da:





Digitized by Google

terapia con ac. ursodesossicolico nella profilassi e terapia della colestasi cronica e della calcolosi colecistica;
supplementazione con taurina, utile anche nel controllo della malnutrizione;
trapianto di fegato in casi di cirrosi con incipiente insufficienza epatica e/o ipersplenismo e varici esofagee (Cox *et al.*, 1987).

**Bibliografia**
Angelico M., Antonelli M. *et al.*, *Hepatology*, 1991, in corso di stampa.
Balistrieri W. F., *Pediatr. Pulmonol.*, 1990, Suppl. 5, p. 71.
Cox K. L., Ward R. E. *et al.*, *Pediatrics*, 1987, 80, 571.

MARIANO ANTONELLI

**Novità terapeutiche: il trapianto polmonare**

Negli ultimi due decenni la più approfondita conoscenza sulla patofisiologia della pneumopatia fibrocistica, l'introduzione di nuovi antibiotici anti-*Pseudomonas* e antistafilococco (penicilline [piperacillina, carbenicillina, azlocillina]; cefalosporine [cefatrizina, cefurossima, cefamandolo, ceftazidima, ceftriassone, cefoperazone]; monobattamici [aztreonam]; aminoglicosidi [tobramicina, gentamicina, amikacina]; chinolonici [ciprofloxacina, ofloxacina, norfloxacina]; cotrimossazolo; imipenem-cilastatina), in schemi terapeutici meglio articolati inseriti in programmi globali più aggiornati di assistenza al malato, hanno permesso di migliorare qualità e durata della vita dei malati di m. (fig. 3).

Ciò nonostante l'evoluzione della malattia respiratoria continua ad essere la causa di esito fatale nella stragrande maggioranza dei casi. Ciò accade quando con l'instaurarsi di un'infezione cronica l'evoluzione delle lesioni non è più controllabile con terapia farmacologica seppur continua ed intensa. Per fronteggiare queste situazioni si sono aperte nuove prospettive offerte dal trapianto polmonare reso possibile dall'affinarsi delle tecniche chirurgiche e dall'introduzione nella terapia immunosoppressiva della ciclosporina, farmaco antirigetto potente, maneggevole e con relativa bassa tossicità.

I primi casi di trapianto in malati di m. risalgono agli anni 1983-'84 da parte di *équipes* inglesi (Higenbottam e Wallward, 1989; Wallwork *et al.*, 1990), canadesi e americane (Marshall *et al.*, 1990; Stanley, 1989). Il trapianto di polmone è divenuto nell'ultimo quinquennio un efficace mezzo di terapia individuale e selettiva atto a fronteggiare situazioni non più controllabili nei malati di m.

La tecnica di trapianto polmonare ha avuto una notevole evoluzione (tab. III) partendo dal trapianto in blocco cuore-polmoni fino alla tecnica attuale più progredita di trapianto bilaterale di polmone con tecnica sequenziale. È da notare che fino all'inizio degli anni '80 le indicazioni al trapianto erano l'ipertensione polmonare primitiva, la fibrosi polmonare, l'enfisema grave e la m. costituiva di per sé una controindicazione, mentre ora è la singola malattia che più frequentemente se ne giova con i soli limiti posti da alcune specifiche controindicazioni (tab. IV).

**TAB. III. EVOLUZIONE DELLE TECNICHE DI TRAPIANTO**

HLT (*Heart Lung Transplantation*: trapianto cuore-polmoni)
LHT (*Lung Heart Transplantation*: trapianto polmoni-cuore)
Intervento di «Domino» (trapianto cuore-polmoni: il cuore del ricevente viene a sua volta trapiantato ad altro ricevente)
DLT «En Bloc» (*Double Lung Transplantation*: trapianto di doppio polmone con anastomosi tracheale)
DLT con anastomosi bronchiali (*Double Lung Transplantation with Bronchial Anastomosis*)
DLT sequenziale (*Sequential Double Lung Transplantation*)

**TAB. IV. CONTROINDICAZIONI AL TRAPIANTO**

1) Precedenti interventi chirurgici toracici (toracotomia, lobectomia, etc.)
2) Ventilazione artificiale di lunga durata
3) Steroidi per via sistemica
4) Inabilità psicosociale
5) Infezioni in fase attiva da micobatteri e aspergilli
6) Epatopatia grave
7) Nefropatia grave
8) Malnutrizione grave
9) Diabete mellito?

Le indicazioni al trapianto bilaterale di polmone nei malati di m. sono date da:
infezione persistente delle vie respiratorie da patogeni (*Pseudo-*

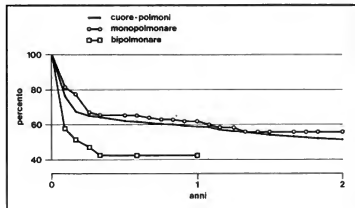



Fig. 3. Curve di sopravvivenza di pazienti con m. dopo trapianto di polmone e cuore-polmoni.



Digitized by Google

*monas*, stafilococco aureo, emofilo) soli o associati della durata di almeno 6 mesi e non più controllabile con terapia farmacologica continua;

$O_2$-dipendenza costante con ipossiemia ($PO_2$ < 50 mmHg) e ipercapnia ($PCO_2$ > 45 mmHg);

profilo di funzionalità respiratoria con rapporto VR (volume residuo)/CPT (capacità polmonare totale) > 50%; rapporto $FEV_1$ (volume di espirazione forzata)/FVC (capacità vitale forzata) < 60%; CV (capacità vitale) < 50%;

condizioni nutrizionali con curva ponderale in rapido decremento (peso ideale per altezza sotto 2 DS);

qualità di vita particolarmente scaduta (perdita di autonomia e inabilità al lavoro);

quadro globale dell'evoluzione della malattia studiato mediante il punteggio di Shwachman, che valuta stato nutrizionale, attività fisica, obbiettività toracica, quadro radiologico del torace, come indice di rapido ed incontrollabile declino (punteggio < al 55%);

attività cardiaca fisiologica con assenza di miocardiocoronaropatia;

assenza di malattie sistemiche in atto;

non uso di steroidi;

buona potenzialità di riabilitazione motoria;

età inferiore a 50 anni;

disposizione psicologica positiva e stabilità emotiva del paziente e della famiglia verso il trapianto.

Attualmente il trapianto di polmone nei malati di m. viene eseguito secondo questi criteri in numerosi paesi (U.S.A., Gran Bretagna, Francia, Canada) e alla fine del 1990 la sopravvivenza a due anni era di circa il 60% (fig. 3). La casistica mondiale al gennaio 1991 dei trapianti di cuore-polmone o doppio polmone in malati di m. è di oltre 300 casi.

Le complicanze possono essere precoci (emorragie, complicanze cardiache e lesioni del S.N.C., sepsi ed edema polmonare) o più frequentemente tardive (infezioni polmonari o sistemiche, deiscenze o stenosi tracheobronchiali, bronchiolite obliterante, rigetto).

L'evento più grave e più pericoloso è il rigetto messo in evidenza dalla comparsa di febbre, leucocitosi o ombra parailare, dispnea, caduta del $FEV_1$ e della perfusione polmonare.

Le cause di morte più frequenti sono le infezioni, le complicazioni legate alle tecniche operatorie, il rigetto, le complicanze cardiache e le lesioni del S.N.C.

Il trapianto non costituisce la cura di elezione della m., ma rappresenta una possibilità nuova e preziosa per il singolo malato in fase terminale per il quale le terapie fisica e farmacologica abbiano esaurito il loro ruolo.

**Bibliografia**

Egan T. M., Kaiser L. R. *et al.*, *Current Problems in Surgery: Lung Transplantation*, vol. XXVI, n. 10, p. 675-746.

Elborn J. S., Shale D. J. *et al.*, *Pediatr. Pulmonol.*, 1990, Suppl. 5, 254.

Fiel S. B., *Pediatr. Pulmonol.*, 1989, Suppl. 4, 50-52.

Higenbottam T., Wallward J., *Pediatr. Pulmonol.*, 1989, Suppl. 4, 53-55.

Marshall S., Starnes V. *et al.*, *Pediatr. Pulmonol.*, 1990, Suppl. 5, 255.

Wallwork S., Starnes V. *et al.*, *Pediatr. Pulmonol.*, 1990, Suppl. 5, 163-164.

MARIANO ANTONELLI

**MULTIDRUG RESISTANCE**: v. RESISTENZA AI CHEMIOTERAPICI*.

## MUNCHAUSEN, SINDROME DI

Per sindrome di Munchausen si indica un quadro clinico caratterizzato dalla simulazione intenzionale dei sintomi da parte del paziente. Tale simulazione, peraltro, esprime un disagio psichico reale e pertanto i pazienti non possono essere considerati dei semplici falsari. Secondo il *Diagnostic and Statistical Manual III* (DSM-III) dell'American Psychiatric Association la s. di M. costituisce un caso particolare di malattia simulata, espressione che indica 3 quadri diversi, uno con soli sintomi psicologici, un secondo costituito da una malattia simulata cronica con sintomi organici, la s. di M. appunto, e un terzo che rappresenta una variante lieve della precedente e che non porta a ricoveri ospedalieri. Almeno in teoria i sintomi sono soggetti in qualche modo al controllo della coscienza e ciò li distinguerebbe da quelli isterici.

Descritta per la prima volta nel 1951 da Asher, la s. di M. fu così chiamata da lui stesso dal nome del barone Karl Friedrich Hieronymus von Münchhausen (è questa la grafia tedesca esatta), un personaggio pittoresco del Settecento che vagava da una città all'altra descrivendo con toni drammatici i fatti della sua vita. Nel caso della sindrome più che di drammatizzazione si tratta di vera e propria simulazione ottenuta anche con il ricorso a manovre autolesive; per es. in un caso riportato sul *New England Journal of Medicine*, un paziente di 39 anni si era autoiniettato dell'aria nei tessuti molli dell'avambraccio.

Nella maggior parte dei casi la s. di M. si presenta come un'emergenza organica nel corso della quale il paziente riferisce in modo drammatico i sintomi più diversi, in genere addominali, neurologici e disturbi della coagulazione; una situazione frequente è quella dell'addome acuto simulato e in numerosi casi i pazienti sono stati sottoposti a interventi chirurgici, in qualche caso anche ripetutamente. Tutto questo spiega anche il perché dei diversi appellativi con cui sono indicati questi pazienti chiamati, a seconda dei casi, «vagabondi di ospedale», «ospedale-dipendenti», «mercanti di emottisi» o in altri modi ancora. I pazienti che si presentano spesso al pronto soccorso cercando di suscitare più allarme possibile, per es. di notte, durante i fine settimana o nel corso dei cambi di guardia, con più documenti d'identità, raccontano una storia ricca di toni drammatici ma non totalmente plausibile o convincente, in cui le uniche «prove» certe di presunti interventi precedenti sono delle cicatrici. In genere il paziente si presenta in ospedale con una grave sintomatologia dolorosa, si appella al medico esaltandone le capacità professionali e nel corso della visita denuncia la presenza di questo o quel disturbo organico reclamando una cura immediata e risolutiva. Di fronte a eventuali dubbi del medico e a domande precise ha un comportamento evasivo in cui la drammatizzazione di disturbi si associa alla denuncia dell'irresponsabilità dei medici che lo hanno visitato in precedenza e così pure delle conseguenze che avrebbe il fatto di non prenderlo ancora una volta sul serio. Il rapporto medico-paziente, dunque, è segnato da un'ambivalenza di fondo in cui il paziente, da un lato, sembra affidarsi alle mani del medico e dall'altro ne diffida. Molto spesso tutto si risolve in una diagnosi d'isteria e il paziente viene dimesso rapidamente o firma per uscire, senza che il problema abbia avuto una seria valutazione psichiatrica. Tutto quindi resta immodificato sino a un successivo ricovero.

Lo stesso Asher accennò alla possibilità che una lesione organica del cervello fosse responsabile del disturbo, ma gli studi successivi non hanno indicato nulla del genere. In un caso recente, la RMN ha evidenziato alterazioni della sostanza bianca non comuni, ma per nulla specifiche e questo dopo 6 successivi esami TC del cranio tutti nei limiti della norma.

In genere, i pazienti con s. di M. hanno una storia di privazioni infantili, di genitori sadici e con atteggiamenti di rifiuto nei loro confronti e trascorsi di segregazione in isti-





Digitized by Google

tuti. Sono state proposte diverse interpretazioni psicodinamiche sulla genesi del disturbo nel quale elementi masochistici si assocerebbero al risveglio di desideri sadici contro le figure dei genitori.

Per la terapia sono state proposte psicoterapie individuali e di gruppo e terapie di supporto, ma la guarigione è rara. Del resto Freud stesso si proclamò piuttosto pessimista circa un possibile successo terapeutico nel caso di pazienti con carattere masochista. In ogni caso, è importante che il medico sia consapevole che atteggiamenti che sembrano del tutto intenzionali possono avere motivazioni inconsce e che, comunque, un atteggiamento moralistico di condanna non fa che perpetuare una dinamica perversa. In altri termini, solo con una piena consapevolezza del transfert masochistico il medico può sperare di evitare un rapporto sado-masochistico con il paziente.

**Bibliografia**
Asher R., *Lancet*, 1951, **1**, 339.
*Diagnostic and Statistical Manual III*, 1980, American Psychiatric Association, Washington, D. C.
Fenelon G., Mahieux F., Rovelet E., Guillard A., *Br. Med. J.*, 1991, **302**, 996.
Jacoby G. A., Stern T. A., *N. Engl. J. Med.*, 1984, **311**, 108-115.
Stern T. A., *Psychosomatics*, 1980, **21**, 329.

STEFANO CAGLIANO

## MUPIROCINA

F. *mupirocine*. - I. *mupirocin*. - T. *Mupirocin*. - S. *mupirocina*.

Antibiotico topico isolato da colture sommerse di *Pseudomonas fluorescens*, la mupirocina (o ac. A pseudomonico) inibisce la sintesi proteica batterica per blocco della sintetasi dell'RNA *transfer* dell'isoleucina. La m. è attiva contro numerosi batteri grampositivi fra i quali la maggior parte dei ceppi di *Staphylococcus aureus*, compresi quelli poliresistenti, e molti streptococchi, in particolare *S. pyogenes* e *S. pneumoniae*. I batteri gramnegativi sono generalmente resistenti alla m., eccezion fatta per *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *N. gonorrhoeae*, *Bordetella pertussis*, *Branhamella catarrhalis*. La resistenza alla m. di alcuni ceppi di stafilococco non risulta sistematicamente associata a quella verso altri antibiotici.

Con l'introduzione in terapia della m. si è osservato in ambienti ospedalieri un aumento di isolamenti di *Staphylococcus aureus* resistenti (dal 3 al 6% in un anno) che sconsiglia trattamenti prolungati.

L'applicazione cutanea di una pomata al 2% non è seguita da apprezzabile passaggio in circolo della m. che viene lentamente metabolizzata *in loco* a prodotti inattivi (ac. monico).

Al contrario di altri antibiotici topici, la m. ha dimostrato una elevata efficacia (con guarigioni oscillanti fra il 60 e il 90%) nel trattamento dell'impetigine da stafilococchi e streptococchi. La sua efficacia in queste forme e nelle infezioni cutanee secondarie è risultata pari a quella di un trattamento sistemico con eritromicina, ampicillina, dicloxacillina. In questi studi la pomata al 2% è stata applicata 3 volte al giorno per 5-15 giorni. Modesti e rari (3% dei casi) sono risultati gli effetti collaterali locali (prurito, bruciori).

**Bibliografia**
Britton J. W., Fajardo J. E., Krafte-Jakobs B., *J. Pediatr.*, 1990, **117**, 827.
Reynolds J. E. F. ed., *Martindale - The Extra Pharmacopoeia*, 1989, 29 ed., The Pharmaceutical Press, London, pp. 264-265.
Ward A., Campoli-Richards D. M., *Drugs*, 1986, **32**, 425-444

REO.

## MUSCOLO [v. vol. IX, col. 2152]

SOMMARIO GENERALE



### FISIOLOGIA

SOMMARIO



#### Muscolo striato

*Regolazione molecolare della contrazione*

È sicuramente accertato che nel muscolo striato le proteine dei miofilamenti interagiscono fra loro causando lo slittamento dei filamenti sottili sui filamenti grossi. È anche accertato che tutte le modificazioni biochimiche e meccaniche che avvengono durante il raccorciamento del sarcomero e la contrazione muscolare sono innescate dagli ioni calcio che si liberano dal reticolo sarcoplasmatico in seguito agli eventi elettrici che accompagnano l'eccitamento. Quali siano però i fattori che inducono la formazione e la rottura del legame fra il filamento sottile e il filamento grosso, in che modo si svolgono esattamente gli eventi a livello molecolare, tutto questo è ancora oggetto di ricerca e di discussione.

Il filamento grosso del sarcomero è formato quasi esclusivamente da *miosina*. Le molecole di miosina risultano costituite da una porzione allungata e una globulare che sono chiamate anche, rispettivamente, *coda* e *testa* della molecola e sono disposte in maniera bipolare nel filamento grosso, cioè simmetricamente ai due lati della linea M del sarcomero (v. MUSCOLARE TESSUTO, IX, 2134). Le parti allungate formano il corpo del filamento mentre le teste sporgono dal filamento stesso e costituiscono i cosiddetti *ponti* che si proiettano verso i filamenti sottili. Le teste di miosina hanno due siti attivi: uno che si lega all'actina e il sito dell'adenosintrifosfatasi, l'enzima che idrolizza l'ATP e rende disponibile l'energia necessaria per la contrazione.

Il filamento sottile, che è attaccato alla linea Z del sarcomero, risulta formato dall'*actina*, dalla *tropomiosina* (Tm) e dalla *troponina* (Tn). Anche di queste proteine è stata determinata la sequenza aminoacidica ma la loro struttura tridimensionale non è ancora sicuramente accertata. L'actina F (filamentosa) forma l'ossatura del filamento sottile. Essa risulta dall'associazione di monomeri di actina G (globulare) in due catene avvolte a spirale. Nei due solchi della spirale giace il filamento di tropomiosina.

La troponina è situata sul filamento di tropomiosina a intervalli regolari di 385 Å. Questa proteina è costituita da tre subunità diverse per forma e funzione. La subunità TnC, così detta perché lega ioni calcio, ha una struttura molto simile a quella delle parvalbumine e delle calmoduline; la subunità TnI inibisce l'interazione actina-miosina mentre la subunità TnT è capace di legarsi alla tropomiosina ma interagisce anche con le altre due subunità. Si parla perciò di *complesso Tn-Tm*, un complesso formato appunto dal legame fra la subunità TnT e la tropomiosina con la partecipazione delle subunità TnC e TnI. Questo complesso, permettendo o impedendo il formarsi del legame fra actina e miosina, è sicuramente il fattore di regolazione della contrazione. Ma in che cosa consista il meccanismo preciso di questa regolazione non è ancora chiarito.

Fino al 1980 si riteneva che le variazioni di concentrazione degli ioni calcio nel sarcomero, tramite le tre sub-



Digitized by Google

Fig. 1. Modello della regolazione della contrazione muscolare ad opera della tropomiosina e delle subunità di troponina (TnI, TnC, TnT). *A sinistra*, nello stato di riposo, la subunità troponina T si lega alla tropomiosina e la subunità inibitoria si lega all'actina; la concentrazione del $Ca^{2+}$ è bassa e il legame tra le subunità di troponina è relativamente debole. *A destra*, nello stato attivo. Quando la concentrazione del $Ca^{2+}$ supera un livello critico il legame fra le subunità di troponina è rafforzato e quello tra TnI e actina è indebolito: la tropomiosina si inserisce profondamente nel solco dell'actina esponendo il sito al quale si può legare la miosina. (*Da C. Cohen, «Le Scienze», 1976, ridisegnata*).

unità di troponina, mandassero segnali al filamento di tropomiosina il quale per la sua posizione impediva all'actina di legarsi alle teste di miosina. La tropomiosina cambiava posizione, l'impedimento veniva rimosso, il filamento di actina poteva slittare sul filamento di miosina e il m. si raccorciava. Il processo era descritto da un modello strutturale chiamato di «inceppamento sterico» come quello schematizzato nella fig. 1.

Secondo questo modello, quando la concentrazione degli ioni calcio nel sarcomero è bassa, il filamento di tropomiosina per la sua posizione nel solco fra i due filamenti di actina inceppa meccanicamente l'interazione fra actina e miosina. Allorché gli ioni calcio si liberano dal reticolo sarcoplasmatico e si legano alla subunità TnC della troponina, la tropomiosina è indotta a scivolare nel solco dell'actina consentendo a questa di accedere ai siti di legame delle teste di miosina.

Questo modello dell'inceppamento sterico era abbastanza convincente perché basato su studi di diffrazione ai raggi X, di ricostruzione tridimensionale delle immagini al microscopio elettronico, sull'esame dei preparati paracristallini di actina, tropomiosina e troponina. Esso inoltre aveva

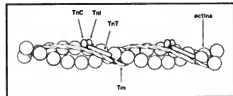



Fig. 2. Struttura del filamento sottile del m. striato dei vertebrati. Si noti che due subunità della troponina sono globulari mentre la subunità TnT è filamentosa. Tm: tropomiosina. (*Da Payne M. R. e Rudnick S. E., 1985, modificata e ridisegnata*).

il pregio della semplicità ed era perciò stato accettato da tutti. Ma dal 1980 sono andati aumentando i dati sperimentali indicanti che al momento della contrazione avvengono fra il filamento di miosina e quello di actina molte cose di più che una semplice modificazione strutturale della via di accesso ai siti di legame fra le due proteine.

Innanzi tutto è stato visto che la troponina non è una proteina globulare come si riteneva da quando nel 1969 fu scoperta e identificata. È stato dimostrato invece che la subunità TnT è una molecola allungata che lega ad una estremità le altre subunità TnC e TnI (fig. 2). La troponina perciò ha domini globulari e domini filamentosi per cui il complesso di regolazione troponina-tropomiosina ha una struttura diversa da quella che aveva ispirato il modello tradizionale.

In questi ultimi anni sono stati fatti molti studi di cinetica chimica sull'affinità fra le proteine che interagiscono e regolano la contrazione muscolare, cioè fra actina e tropomiosina, fra tropomiosina e troponina, fra le subunità della troponina stessa. Questi studi hanno indicato che il ruolo della tropomiosina non è semplicemente quello di aprire e chiudere, sotto il comando della troponina, una strada di accesso per rendere possibile all'actina di interagire con la miosina, come nel modello dell'inceppamento sterico. Al contrario, esiste un rapporto più complicato fra queste proteine: quando due di esse interagiscono, il legame che si forma modifica le costanti di associazione fra le altre.

Sulla base di questi studi è stato proposto un modello detto di «affinità relativa». Anche in questo modello il calcio è sempre il fattore primario: il legame fra gli ioni calcio e la subunità TnC annulla l'azione inibitrice della subunità TnI; tramite il segnale inviato dalla subunità TnT, cambiano l'affinità e i rapporti fra actina e filamento di tropomiosina. Più propriamente, secondo questo modello, le variazioni di affinità fra i componenti proteici, iniziate col formarsi del legame tra il calcio e la subunità TnC, inducono alla fine una sottile modificazione conformazionale del filamento di actina e l'instaurarsi del legame fra questo e il filamento di miosina.

È interessante ricordare che alcuni dati sperimentali contrastavano nettamente col modello dell'inceppamento sterico. Così per es. si sapeva che il m. adduttore dei molluschi bivalvi (dal quale K. Bailey aveva isolato la tropomiosina) manca di troponina. Eppure il filamento di tropomiosina anche in questo m. slitta nella doccia di actina, come aveva rivelato la diffrazione ai raggi X. Questo e altri dati non erano stati presi in considerazione perché ottenuti da materiale diverso dal m. scheletrico dei vertebrati. Il modello di affinità relativa fra i componenti proteici può invece spiegare anche questo caso in cui il movimento pare avvenga in risposta all'interazione fra miosina e actina soltanto.

**Bibliografia**

Dantzig J. A., Walker J. W., Trentham D. R., Goldman Y. E., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1988, **85**, 6716.
Flicker P. F., Phillips G. N., Cohen C., *J. Mol. Biol.*, 1982, **162**, 495.
Payne M. R., Rudnick S. E., in Shay J. W. ed., *Cell and Muscle Motility*, 1985, Plenum Press, pp. 141-184.
Payne M. R., Rudnick S. E., *TIBS*, 1989, **165**, 357.
Pollard T. D., Cooper J. A., *Ann. Rev. Biochem.*, 1986, **55**, 987.
Sobieszek A., *J. Mol. Biol.*, 1982, **157**, 275.

FRANCESCO GHIRETTI

**Muscolo liscio**

*Classificazione dei muscoli lisci*

I m. lisci, contrariamente ai m. striati, formano un gruppo eterogeneo e mostrano notevoli differenze morfologiche e





Digitized by Google

funzionali. È stato accertato, ad es., che non tutti i m. lisci sono sede di attività contrattile spontanea, giacché in alcuni casi l'innervazione da parte del sistema nervoso autonomo, simpatico o parasimpatico, non svolge solo funzioni di controllo mediante fibre eccitatrici o inibitrici, ma serve anche per avviare la contrazione. Inoltre, lo stiramento non in tutti i m. lisci causa contrazione, perché non determina sempre la depolarizzazione del sarcolemma.

Sulla base delle loro proprietà fisiologiche i m. lisci si sogliono classificare in due gruppi: m. unitari e m. multiunitari.

I m. *unitari* sono la grande maggioranza dei m. lisci: del tratto gastrointestinale, dei vasi sanguigni e linfatici, dello uretere, dell'utero. Sono dotati di attività contrattile spontanea, dovuta alla presenza di centri di avviamento simili ai *pacemaker* del muscolo cardiaco. In queste fibre infatti il potenziale di membrana è instabile e la membrana tende a depolarizzarsi fino a raggiungere un valore critico in cui si genera il potenziale di azione e il m. si contrae. In questi casi l'entità della contrazione dipende dalla frequenza dei potenziali di azione per ogni singola fibra e dal numero di fibre che sono interessate.

I m. lisci *multiunitari* comprendono la membrana nittitante, le fibre pilomotorie, i m. ciliari, quelli dell'iride, i m. dei vasi sanguigni più grossi. Come dice il nome, essi sono organizzati in unità motorie e sono controllati da fibre nervose motorie proprio come avviene nel m. striato. Di regola, infatti, non si contraggono spontaneamente ma solo in risposta a segnali nervosi.

Questa distinzione tuttavia non è assolutamente rigorosa perché ci sono molti altri m. lisci che hanno proprietà intermedie (per es. quelli dei vasi deferenti, di certe arteriole e di certe venule).

*Le cellule muscolari lisce*

Le cellule muscolari lisce al microscopio ottico appaiono più piccole delle fibre muscolari striate, hanno una lunghezza di 50-100 μ e un diametro di 2-5 μ e sono mononucleate. La membrana plasmatica (o sarcolemma) contrae numerosi rapporti di contiguità con la membrana delle cellule adiacenti.

I m. lisci non hanno l'equivalente del perimisio e dell'endomisio ma lo spazio intercellulare, seppure scarso, è ricco di collageno, molto di più del m. striato (32 mg per g di tessuto fresco nella *taenia coli*, 36 mg nel miometrio, 78 mg nell'aorta, in confronto con 9 mg nel m. striato e 197 mg nel tendine). Ciò indica che nel m. liscio il collageno partecipa alla trasmissione meccanica della forza contrattile da una cellula all'altra e al mantenimento del tono muscolare.

La cellula muscolare liscia non ha miofibrille ma contiene miofilamenti di *miosina* e di *actina* che costituiscono l'apparato contrattile. Il m. liscio ha meno miosina del m. striato e anche il rapporto miosina-actina è più basso. I filamenti di miosina hanno un diametro di circa 15 nm ma differiscono per forma da quelli del m. scheletrico. I filamenti di actina, del diametro di circa 7 nm, sono variamente disposti intorno a quelli di miosina. Il loro numero varia a seconda dell'organo e dell'animale ma in ogni caso i filamenti di actina sono assai di più (da 8 a 15 volte) dei filamenti di miosina.

C'è poi un terzo tipo di filamenti che sono detti *intermedi* perché hanno un diametro compreso fra quello dei primi due. Si ritiene che questi filamenti servano a sostenere, mediante un intreccio, i filamenti grossi e quelli sottili. La loro natura chimica è simile alla *desmosina* nei m. dell'intestino, alla *vimentina* nei m. dei vasi, alla *precheratina* nelle cellule mioepiteliali.

Al microscopio elettronico si rileva che i filamenti di miosina e di actina decorrono parallelamente fra loro e all'asse longitudinale della cellula ma non c'è alcuna ripetizione regolare dei filamenti stessi come nel sarcomero delle fibre muscolari striate.

Come per il m. scheletrico anche per il m. liscio la forza che genera la tensione e causa l'accorciamento deriva dall'interazione fra i filamenti di actina e quelli di miosina in seguito all'aumento della concentrazione degli ioni calcio. Si ritiene che l'ipotesi dello slittamento (v. sopra: *muscolo striato*) valga anche per il m. liscio, ma è meno chiaro come esso avvenga perché non si sa come sono fatti i miofilamenti e come sono disposti fra di loro.

Il sarcolemma delle fibre muscolari lisce appare fortemente incrostato di materiale denso agli elettroni. Sono i cosiddetti *corpi densi* o *bande dense* che appaiono associati alla membrana dal lato citoplasmatico. In alcuni casi essi sporgono nel sarcoplasma ed entrano in contatto con i filamenti di actina. Queste formazioni sono considerate perciò punti di ancoraggio dei filamenti contrattili alla membrana cellulare e parteciperebbero alla trasmissione dell'eccitamento da una cellula muscolare all'altra.

In questi ultimi anni la composizione chimica dei corpi densi è stata oggetto di molti studi. Il componente principale è l'α-*actinina*, una proteina di circa 100 kd già nota per formare la linea Z del m. striato. Si ritiene che questa proteina abbia la funzione di legare i filamenti di actina proprio come avviene in corrispondenza della linea Z del sarcomero. Un'altra proteina è la *filamina* (di 250 kd) che probabilmente si trova distribuita lungo i filamenti di actina. Una terza proteina identificata è la *vinculina* di 130 kd.

Alla trasmissione dell'eccitamento partecipano anche le *giunzioni discontinue*. Queste sono giunzioni simmetriche formate da due bande dense di cellule adiacenti accostate una all'altra. Queste formazioni sono simili a quelle che assicurano l'adesione meccanica fra le cellule ma sono morfologicamente diverse dai desmosomi.

Una proteina extracellulare dei m. lisci che facilita l'adesione della membrana cellulare allo stroma è la *fibronectina* (una glicoproteina di 220 kd). Essa si lega alla superficie cellulare e al collageno favorendo l'adesione di questo alle cellule. La fibronectina ha anche la tendenza ad associarsi e a formare microfibrille.

*Attività contrattile spontanea e attività elettrica*

Il m. liscio *monounitario* ha attività contrattile spontanea continua in assenza di ogni impulso nervoso od ormonale anche dopo che è stato rimosso dal corpo, proprio come il m. cardiaco. Nella membrana di questo tipo di muscolatura liscia l'evento elettrico fondamentale è una fluttuazione spontanea del potenziale di riposo, una depolarizzazione che si verifica spontaneamente a intervalli regolari di tempo. Questo prepotenziale, detto anche *potenziale di pacemaker*, è relativamente lento e, allorché raggiunge il valore soglia, scatena il potenziale di azione. Quando la membrana si ripolarizza, ricomincia la depolarizzazione lenta che dà origine ad un altro potenziale di azione e così di seguito.

L'attività elettrica del m. è sincronizzata con l'attività meccanica di tutte le cellule che rispondono come se costituissero una unità singola. Questa simultaneità è dovuta alla presenza delle giunzioni discontinue fra le cellule, strutture che costituiscono punti di minore resistenza per la conduzione dell'attività elettrica da una cellula all'altra. Proprio come nel m. cardiaco, il potenziale spontaneo di *pacemaker* che insorge in un punto si propaga alle cellule adiacenti che rispondono come se formassero una unità singola.

L'attività elettrica spontanea del m. liscio può essere modificata da agenti fisici o chimici esterni: stiramento mecca-





Digitized by Google

nico, ormoni, farmaci, etc. Questi agenti agiscono sulla membrana causando una depolarizzazione oppure una iperpolarizzazione. Così, per es., lo stiramento del muscolo depolarizza la membrana per cui aumenta la frequenza dei potenziali di azione e quindi delle contrazioni. Invece gli agenti iperpolarizzanti fanno diminuire la frequenza dei potenziali di azione spontanei e causano il rilasciamento del m.

Nel caso del m. liscio *multiunitario* la depolarizzazione della membrana che evoca la contrazione è provocata dal neurotrasmettitore, acetilcolina e noradrenalina, liberato dalle terminazioni delle fibre nervose che innervano il m.

*Tono dei muscoli lisci*

Il m. liscio è capace di raccorciarsi reversibilmente a meno di un quarto della sua lunghezza a riposo e genera una tensione eguale a quella del m. scheletrico pur avendo assai meno miosina. La contrazione è più lenta di quella dei m. scheletrici e dura assai più a lungo con una spesa minima di energia. Ciò perché già allo stato di riposo i m. lisci hanno un certo «tono plastico», una tensione basale, sono cioè in uno stato di «quasi contrazione» sul quale si sovrappongono le contrazioni vere e proprie. Modificazioni di questo tono plastico dovute, per es., alla pressione o alla distensione, possono agire come stimoli causando una depolarizzazione della membrana plasmatica della fibra e generare la contrazione ritmica e spontanea della muscolatura.

Come è stato detto sopra, nel m. liscio i filamenti grossi di miosina e i filamenti sottili di actina sono orientati nel senso della lunghezza della cellula muscolare ma non sono organizzati a formare unità regolari come nei sarcomeri del m. striato.

La sovrapposizione casuale dei filamenti contrattili spiega la capacità della muscolatura liscia di sviluppare una tensione entro un ambito di lunghezza assai maggiore del m. scheletrico (fig. 3). Come è noto (v. MUSCOLO, IX, 2179, fig. 20) il *diagramma tensione-lunghezza* del m. scheletrico si spiega col diverso grado di sovrapposizione nel sarcomero dei filamenti di actina sui filamenti di miosina durante il raccorciamento. Nel m. liscio, a causa della disposizione non ordinata dei filamenti, a qualunque lunghezza del m. si ha sempre una certa sovrapposizione dei filamenti sottili di actina su quelli più grossi di miosina. Questa proprietà è molto importante. Infatti i m. lisci che sotto forma di anelli o di strati sottili circondano per es. la cavità dello stomaco o della vescica urinaria, sono capaci di esercitare più a lungo una pressione sul contenuto di quelle cavità man mano che esse si riempiono rispettivamente di cibo o di urina. Se invece la muscolatura fosse striata, la tensione si svilupperebbe entro limiti di distensione assai più ristretti perché più ristretta sarebbe l'ampiezza di sovrapposizione dei miofilamenti.

Fig. 3. Disegno schematico per indicare l'andamento delle variazioni della tensione in funzione della lunghezza del m. scheletrico (A) e del m. liscio (B). Sull'ascissa la lunghezza relativa del m. Sull'ordinata la tensione isometrica.

**Bibliografia**

Bond M., Somlyo A. V., *J. Cell Biol.*, 1982, **56**, 413.
Bülbring E., Shube M. F., *Physiology of Smooth Muscle*, 1976, Raven Press, New York.
Cooke P., *J. Cell Biol.*, 1976, **48**, 539.
Frank E. D., Warren L., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1981, **78**, 3020.
Gabbiani G. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1981, **78**, 298.
Gabella G., *Physiol. Rev.*, 1984, **64**, 445.
Geiger B. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1980, **77**, 4127.
Hirokawa N., Tilney L. G., *J. Cell Biol.*, 1982, **95**, 249.
Jockusch B. M., Isenberg G., *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1982, **46**, 613.
Jockusch B. M., Isenberg G., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1981, **78**, 3005.
Somlyo A. P. *et al.*, *Philos. Trans. R. Soc. London (Ser. B.)*, 1973, **265**, 223.
Wang K., Ash J. F., Singer S. J., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1975, **72**, 4483.
Weeds A., *Nature*, 1982, **296**, 811.

FRANCESCO GHIRETTI

## DIAGNOSTICA PER IMMAGINI

SOMMARIO



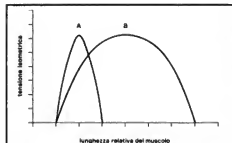
La diagnostica per immagini dei tessuti muscolari si avvale di numerose metodiche di indagine; la radiologia ad alta risoluzione (fondata sulla radiografia a basso kilovoltaggio e sulla xeroradiografia), la teletermografia, l'ecografia, la tomografia computerizzata (TC), la risonanza magnetica nucleare (RMN) e, in particolari casi, l'angiografia e la medicina nucleare.

Alcune di queste tecniche rivestono attualmente una importanza molto relativa e sono da considerare, se non obsolete, almeno limitate ad un ristretto campo di applicazione o utilizzabili solo come primo approccio al problema diagnostico, laddove non siano a disposizione metodi più sofisticati ed esaurienti.

**Radiografia a basso kilovoltaggio**

Consente di ottenere immagini di notevole qualità. L'apparecchiatura usata consiste in un tubo radiogeno con macchia focale piccola (0,3-0,4 $mm^2$) o ultrafine (0,1 $mm^2$), in un tavolo di comando a regolazione fine (1 kV), di accessori per l'ingrandimento diretto e per il miglioramento dell'immagine. La registrazione è data dal sistema film-schermo di rinforzo alle terre rare. Le tensioni utilizzate sono molto basse (26-36 kV).

**Xeroradiografia**

Un tempo molto usata per lo studio dei tessuti molli, tende a essere oggi progressivamente sostituita da altre metodiche (ecografia, TC, RMN). È una variante della tecnica radiografica caratterizzata da un'eccezionale latitudine d'esposizione e da un'alta risoluzione dei dettagli, dovuta all'«effetto bordo». In sostanza, rispetto alla radiografia tradizionale, varia soltanto il sistema di registrazione, basato sull'uso di piastre al selenio che detengono l'immagine latente, la quale viene successivamente trasferita su





Digitized by Google

fogli di carta plastificata. Questa tecnica consente una buona visualizzazione delle strutture osteoarticolari e, contemporaneamente, di quelle muscolotendinee. Un limite è costituito dalla difficoltà di esplorazione di grandi sezioni di tessuto ad alta densità (coscia, anca, etc.).

**Teletermografia**

Può essere usata ad integrazione di altre metodiche, essendo un esame prettamente funzionale basato sulla rilevazione della distribuzione termica cutanea, che è modificata da una variazione dell'attività metabolica del tessuto superficiale e semiprofondo, come quella che si verifica, ad es., in caso di flogosi e di processi riparativi. La tecnica misura l'irraggiamento infrarosso emesso dalla superficie in esame, dopo ambientamento in sala termostatata. La rilevazione dell'immagine può essere in bianco e nero o a colori, secondo scale cromatiche arbitrariamente impiegate per rappresentare le differenze termiche. Esistono teletermografi analogici, digitali e digitali computerizzati. Il limite di questa tecnica d'indagine è rappresentato dalla scarsa specificità dei reperti.

**Ecografia**

L'ecografia costituisce oggi, insieme alla TC e alla RMN, la metodica di maggiore affidabilità nello studio del tessuto muscolare. Negli ultimi anni, in particolare, si è avuto un maggiore affinamento delle possibilità diagnostiche, grazie al perfezionamento delle sonde utilizzate e alla maggiore esperienza acquisita dagli specialisti del settore. Nell'*iter* diagnostico di un'affezione muscolare, si può dire che la ecografia, sia per l'innocuità, sia per la relativa accessibilità, deve essere considerata, nell'ambito della diagnostica per immagini, come l'esame fondamentale, mentre la TC e la RMN dovrebbero costituire indagini di seconda istanza, da eseguire quando un quesito clinico o un dubbio diagnostico necessitino di ulteriore approfondimento.

*Apparecchi e tecnica d'esame*

Le apparecchiature usate sono ecografi *real-time* con sonde lineari ad alta e altissima frequenza (5-7,5 MHz) che consentono una ottima visualizzazione del tessuto, esente da distorsioni. I muscoli più facilmente esaminabili sono quelli lunghi, mentre i larghi sono valutabili solo se di grosso spessore. L'esame si basa innanzitutto sul riconoscimento del gruppo muscolare leso, sulla conoscenza della sua funzione e sulla valutazione comparativa eseguita sia a riposo sia in contrazione. La variabilità anatomica dei fasci e dei gruppi muscolari è notevole da individuo ad individuo, ma la struttura architettonica con cui si presenta il muscolo è sempre la stessa ed è caratterizzata dall'evidenza ecografica dei fasci terziari e dell'epimisio. Le strutture terziarie appaiono come bande ecogene parallele e ordinate quando il fascio ultrasonoro le colpisce perpendicolarmente, mentre l'epimisio e le guaine connettivali sono espresse da linee ecoriflettenti.

Talvolta, una sottile linea ipoecogena può rappresentare il piano di clivaggio tra due m. In contrazione attiva o passiva si assiste alla modificazione dello spessore del ventre muscolare e al normale scorrimento sui piani adiacenti, rendendosi evidente l'integrità dell'epimisio ovvero, ove presenti, anomalie dinamiche rispetto alle strutture circostanti (ernie, masse occupanti spazio, etc.). La vascolarizzazione del m. è evidenziabile solo se di calibro discreto.

*Reperti nelle varie condizioni morbose*

Piuttosto raro è l'uso degli ultrasuoni nello studio delle *anomalie congenite* del m., nelle quali il contributo diagnostico offerto da questa indagine è modesto.

Nelle *atrofie* muscolari l'ecografia consente una buona valutazione solo nelle forme circoscritte, essendo possibile un confronto con il lato sano, mentre si limita al monitoraggio della situazione patologica nelle forme diffuse. Il quadro ecografico è dato da un minore spessore, da un incremento dell'ecogenicità, dovuto all'aumento del tessuto connettivo, da un diffuso disordine strutturale. Le *distrofie* (fig. 4) producono quadri molto simili a quelli del-

Fig. 4. Scansione ecografica sagittale del quadricipite femorale in paziente portatore di distrofia tipo cingoli. Alterazione diffusa dell'architettura muscolare. Ipotrofia generalizzata del tessuto.

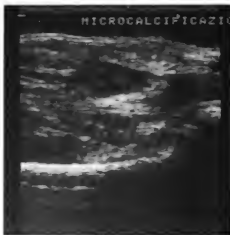



Fig. 5. Flogosi cronica pluriascessuale e panniculopatia cronicizzata dell'avambraccio (immagine ecografica). Profonda alterazione delle strutture muscolari con piani di scorrimento non riconoscibili. Presenza di microcalcificazioni e di estesa fibrosi del sottocutaneo.





Digitized by Google

l'atrofia, essendo praticamente impossibile evidenziare il processo nella fase precoce.

Nelle *flogosi* (figg. 5-7) si hanno reperti estremamente variabili a seconda della fase della malattia. In un primo tempo la lesione è rilevabile solo come area lievemente ipoecogena a margini indistinti, nel cui contesto l'architettura muscolare appare grossolana. Tale aspetto si fa più evidente e significativo con il procedere dell'alterazione flogistica: appaiono interruzioni delle fibre terziarie ed aree più nettamente ipoecogene, mentre i margini si fanno più definiti e possono anche comparire aree anecogene di significato colliquativo. In questi casi è talora possibile seguire le strade di avvenuta fistolizzazione e dare al chirurgo importanti indicazioni sulla migliore via di drenaggio. Nei casi di cronicizzazione compaiono aree dense e cercini iperecogeni dovuti alla reazione fibrotica. Il reperto ecografico può essere notevolmente complesso e una diagnosi differenziale con forme neoplastiche non è sempre agevole. Alcune forme flogistiche sono facilmente riconoscibili per le lesioni patognomoniche, come la fibrosi estesa e la calcificazione progressiva della miosite ossificante (figg. 8 e 9).

La *patologia traumatica* è il campo di maggiore utilizzazione dell'ecografia muscolare nella pratica quotidiana. Le lesioni di minore entità, senza rottura delle fibre terziarie, sono evidenziabili solo come aree di maggiore spessore del m. con ecogenicità ridotta e aspetto alterato dalla soffusione emorragica e dall'edema. Le *distrazioni* (fig. 10) sono sempre riconoscibili anche se possono esserci difficoltà nella localizzazione topografica nei m. profondi. Si manifestano sotto forma di aspetto grossolano e sfilacciamento delle fibre in un'area francamente ipo-anecogena. La contrazione avviene ugualmente, anche se suscita dolore, come dolorosa è anche la pressione elettiva della sonda.

La *rottura parziale* (fig. 11) è denunciata dalla presenza di ematoma e dalla interruzione di alcune fibre, mentre le

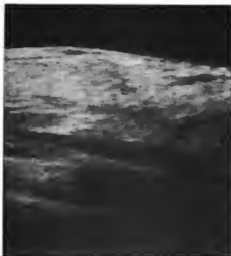



Fig. 6. Stesso caso della figura precedente. Scansione ecografica sagittale. Intensa fibrosi. Presenza di tramiti fistolosi.

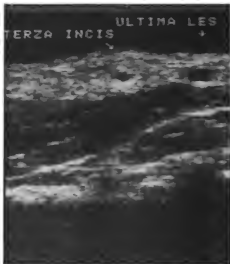



Fig. 7. Stesso caso della figura precedente. Raccolte ascessuali nel m. e nel sottocute delimitate da tessuto di granulazione.

Fig. 8. Scansione ecografica sagittale del tricipite surale in paziente con miosite ossificante progressiva. Presenza di numerosi depositi calcifici con evidente cono d'ombra posteriore.





Digitized by Google

Fig. 9. Stesso caso della figura precedente. Scansione trasversale. Si notano le aree di ossificazione. Iniziale complicanza con ascesso che drena verso la superficie.

Fig. 11. Ematoma acuto della loggia posteriore della gamba sinistra. Sezione TC. Raccolta emorragica iperdensa nella loggia posteriore della gamba.

discrepanza tra quadro clinico (impotenza funzionale e dolore di grado notevole) e quadro ecografico (scarsamente significativo).

La *patologia tumorale benigna* (fig. 12), sia propria della cellula muscolare sia del tessuto interstiziale, ha caratteristiche ecografiche simili: forma ovoidale (in relazione anche alla resistenza opposta dai tessuti circostanti e alla sede), dislocante e non infiltrante, modesta disomogeneità,

Fig. 10. Scansioni ecografiche trasversali del quadricipite femorale. Confronto tra i due lati. *A sinistra* lesione distrattiva parziale (D1).

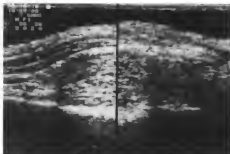



Fig. 12. Scansione ecografica sagittale del terzo medio e distale del braccio, anteriormente. Grossa neoformazione con caratteri di benignità. Le strutture circostanti sono dislocate e compresse. Aspetto diffusamente disomogeneo e forma a fuso della lesione (lipoma del bicipite a lenta crescita).

circostanti appaiono integre. Si può associare una rottura dell'epimisio con conseguente spandimento dell'ematoma tra le fasce circostanti. La *rottura totale* dà luogo a un quadro ecografico assolutamente caratteristico: presenza di due monconi che sporgono con aspetto «a batacchio di campana» nell'area anecogena data dall'ematoma. Il m. non si modifica nella dinamica passiva. L'ematoma è sempre presente e mostra le stesse caratteristiche ecografiche delle altre raccolte liquide; può andare incontro ad organizzazione della struttura interna e simulare una forma tumorale.

A proposito di piccoli ematomi, si sottolinea la possibile

epimisio integro con normale scorrimento dei piani contigui.

L'ecogenicità è varia, in genere i lipomi sono ipoecogeni, i fibromi iperecogeni. I *tumori maligni* si presentano come masse infiltranti, a struttura disomogenea, con possibili aree ipo-anecogene centrali da necrosi colliquativa, scarsa apprezzabilità dei fasci terziari. La neoplasia può essere limitata dall'epimisio ad un solo gruppo muscolare senza alterazioni di scorrimento, o aver invaso anche i m. circostanti con impedimento della normale dinamica. Le *metastasi* a distanza nel m. sono piuttosto rare e generalmente appaiono ben localizzate, senza tendenza all'infiltra-





Digitized by Google

zione. Più frequente l'interessamento da parte di neoplasie contigue che infiltrano e stravolgono la normale architettura del tessuto muscolare.

**Bibliografia**
Balconi G., *US Med.*, 1984, **2**, 46-57.
Balconi G., *I muscoli*, in Rizzatto G. ed., *Anatomia ecografica: quadri normali, varianti e limiti con il patologico*, 1983, Masson Italia, Milano, pp. 127-129.
Balconi G., Teruzzi P. G., *I muscoli*, in *Ecografia clinica delle strutture superficiali*, a cura di Rizzatto G., Solbiati L., 1985, Masson Italia, Milano, pp. 189-207.
Campani R., Bozzini A., Pisani A. *et al.*, *Ecotomografia*, in *Apparato locomotore*, 1986, Idelson, Napoli, pp. 469-492.
Fornage B. D., Touche D. H., Segal P., Rifkin M. D., *J. Ultrasound Med.*, 1983, **2**, 549.
Gozzi G., Bazzocchi M., Cova M. A. *et al.*, *Radiol. Med.*, 1987, **73**, 212.
Lagalla R., Cardinale A., De Maria M. *et al.*, *Diagn. Imm.*, 1984, **4**, 423.
Leonardi M., Ulivi M., Balconi G., *It. J. Sports Traumatol.*, 1983, **1**, 49-57.
Polverosi R., Cammisa M., Delle Monache C., *Radiol. Med.*, 1987, **74** (n. 6), 569.

MARTINO PISANELLO

**Tomografia computerizzata**

Sino all'introduzione nella pratica clinica della RMN, la TC, unitamente all'ecografia, ha costituito l'indagine di elezione nello studio della patologia dell'apparato muscoloscheletrico. Anche se il suo impiego risulta in parte limitato dalla maggiore accuratezza della RMN, la TC costituisce una metodica tuttora valida nella valutazione di tale distretto anatomico.

Alla TC in condizioni normali le strutture muscolari risultano omogenee e presentano valori di densità intermedi (intorno alle 70 U.H.). I diversi gruppi muscolari vengono accuratamente dimostrati nelle sezioni assiali e la loro identificazione risulta agevolata dalla differente densità dei piani di tessuto adiposo interfacciale (valori densitometrici negativi).

L'impiego del mezzo di contrasto per via endovenosa, specie se effettuato con la tecnica dell'angio-TC (introduzione a bolo del mezzo di contrasto con sezioni sequenziali rapide), consente un'accurata dimostrazione delle strutture vascolari, risultando fondamentale nella diagnosi dei processi espansivi.

La TC ha peraltro un limite intrinseco nell'orientamento obbligatoriamente assiale delle scansioni, che non permette una valutazione *in toto* di una lesione estesa longitudinalmente. Il ricorso alle ricostruzioni multiplanari può in parte ovviare a questo problema. Lo studio dell'apparato muscolare necessita di apparecchiature ad alta definizione e deve essere condotto effettuando sezioni ravvicinate e di strato sottile che permettano di evidenziare anche minime differenze di densità tessutale.

*Patologia traumatica*

Le *lacerazioni muscolari* si presentano alla TC come aree ipodense responsabili di una soluzione di continuo delle fibre della struttura muscolare coinvolta.

L'aspetto degli *ematomi* varia in relazione all'epoca di insorgenza. In fase acuta essi presentano densità superiore a quella del m. normale e possono essere rilevati come raccolte iperdense, ben delimitate, nel contesto di un ventre muscolare o come un'alternanza di aree iper- e ipodense, se la soffusione emorragica è più estesa (fig. 13). Con la cronicizzazione si osserva una progressiva riduzione di densità: ad un mese di distanza l'aspetto più frequente degli ematomi è quello di aree ipodense ben delimitate.

La *miosite ossificante* può costituire una sequela tardiva dei traumi muscolari, anche misconosciuti; peraltro l'assenza di un precedente traumatico all'anamnesi può rendere problematica la differenziazione con l'osteosarcoma paraostale. L'aspetto alla TC è quello di una tumefazione ipodensa nella porzione centrale e iperdensa esternamente, con calcificazioni periferiche.

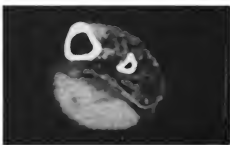



Fig. 13. Ematoma acuto della loggia posteriore della gamba sinistra. L'esame con la TC consente l'individuazione della raccolta emorragica iperdensa.

*Patologia flogistica*

La TC permette un'accurata dimostrazione degli *ascessi intramuscolari*, il cui aspetto caratteristico è quello di raccolte fluide (ipodense), circondate da una pseudocapsula che aumenta di densità dopo mezzo di contrasto con raccolte gassose nel contesto (segno patognomonico di ascessualizzazione). In alcuni casi tuttavia la differenziazione dai processi espansivi neoplastici può risultare problematica, rendendo indispensabile il ricorso all'agobiopsia.

La TC risulta utile anche nel dimostrare il coinvolgimento delle strutture muscolari adiacenti a segmenti scheletrici sede di osteomielite.

*Lesioni espansive*

Nello studio delle neoplasie dei tessuti molli, e in particolare del m., la TC fornisce elementi utili per la caratterizzazione tessutale e consente un'accurata valutazione della estensione delle lesioni, indispensabile ai fini della programmazione terapeutica.

Sulla base dei dati forniti dall'analisi morfodensitometrica, risulta agevole identificare la natura liquida, solida o adiposa delle lesioni espansive (fig. 14). In presenza di tumefazioni parenchimatose, la TC non consente di distinguere con sicurezza le lesioni benigne dai processi maligni; tuttavia alcuni criteri possono indicare l'assenza di invasività della lesione. Le neoformazioni benigne si presentano generalmente come tumefazioni di densità omogenea, ben capsulate, a margini netti e contorni definiti. Dopo somministrazione di mezzo di contrasto si rileva scarso e omogeneo incremento dei valori densitometrici. L'angio-TC (fig. 15) evidenzia inoltre una dislocazione dei vasi di calibro maggiore conseguente a fenomeni compressivi sulle strutture vascolari. Nelle neoformazioni di tipo maligno, la TC dimostra la presenza di masse che coinvolgono le strutture adiacenti, con margini irregolari ed aspetti infiltrativi. La presenza di aree disomogenee all'interno della massa, riferibili a zone necrotiche, è dimostrabile in modo migliore dopo la somministrazione del mezzo di contrasto e tale reperto orienta verso la diagnosi di malignità. L'angio-TC





Digitized by Google

Fig. 14. Liposarcoma della coscia. Sezione TC. Presenza di lesione espansiva di densità mista, solido-adiposa, nella loggia posteriore della coscia destra.

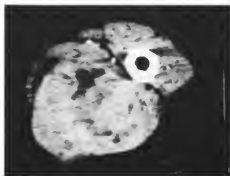



Fig. 15. Schwannoma del nervo sciatico. Angio-TC. Voluminosa lesione espansiva a struttura solida, con aree necrotiche nel contesto localizzata nella loggia posteriore-mediale della coscia sinistra.

permette inoltre di dimostrare il coinvolgimento e l'infiltrazione dei vasi di calibro maggiore, evitando in tal modo il ricorso agli esami angiografici propriamente detti.

Per una terapia chirurgica che sia la più radicale ed allo stesso tempo la meno demolitiva possibile, è indispensabile l'esatta valutazione dell'estensione della neoplasia muscolare e dei rapporti con le strutture circostanti. La TC permette un'accurata definizione delle lesioni, dimostrando la presenza o meno di piani di clivaggio tra la massa e le strutture contigue; la scomparsa dei piani di tessuto adiposo è un indice di probabile infiltrazione. È possibile peraltro una sovrastadiazione delle neoplasie del m. e dei tessuti molli in genere, per l'incapacità della TC di differenziare il tessuto neoplastico dall'edema circostante.

La TC è in grado di rilevare fenomeni erosivi nei confronti delle strutture ossee e di identificare il coinvolgimento dei vasi di calibro maggiore. Gli esami radiologici convenzionali sono comunque più accurati nella dimostrazione delle alterazioni scheletriche.

Nei controlli a distanza dei pazienti sottoposti ad exeresi per neoplasie del m. e degli altri tessuti molli, la TC si dimostra efficace nella caratterizzazione densitometrica delle masse rilevabili palpatoriamente; invece le piccole tumefazioni profonde non possono essere accuratamente tipizzate, per l'impossibilità di distinguere cicatrici, ematomi cronici e recidive.

**Risonanza magnetica nucleare**

I tessuti molli rappresentano, in ordine di frequenza, il secondo campo di applicazione della RMN dopo il S.N.C. Il principale vantaggio della RMN nello studio dell'apparato muscoloscheletrico è rappresentato dall'elevato contrasto di immagine (superiore a quello della TC), che permette un'accurata dimostrazione delle diverse strutture anatomiche. La possibilità di ottenere immagini multiplanari liberamente orientate è un altro dei fattori che rendono la RMN particolarmente indicata nello studio dei tessuti muscolari. Rispetto alla TC, le cui immagini possono essere distorte da artefatti dovuti all'alta densità delle strutture ossee, la RMN permette inoltre una valutazione più accurata dei tessuti molli iuxtacorticali.

L'esame in RMN dell'apparato muscoloscheletrico deve essere effettuato su piani multipli (assiali, sagittali, coronali), con entrambe le sequenze ($T_1$ e $T_2$). Lo studio di particolari distretti è favorito dall'impiego di bobine di superficie che permettono un miglioramento del rapporto segnale/rumore e della risoluzione spaziale. Le strutture muscolari presentano moderata intensità di segnale in entrambe le sequenze $T_1$ e $T_2$. I tendini ed i legamenti presentano debole intensità di segnale sia in $T_1$ che in $T_2$, risultando scuri nell'immagine. Il tessuto adiposo, invece, risulta marcatamente iperintenso (bianco nell'immagine) nelle sequenze $T_1$-pesate, mentre presenta segnale di intensità ridotta (comunque superiore al m.) in quelle $T_2$. L'osso corticale risulta molto scuro nelle immagini in RMN (ipointenso in entrambe le sequenze) e contrasta con il segnale più intenso fornito dalla componente midollare.

*Patologia traumatica*

La RMN consente un'accurata dimostrazione delle lesioni muscolari di origine traumatica, permettendo di identificarne con precisione la sede e l'estensione. Le sequenze $T_2$-pesate si sono dimostrate come le più indicate nel rilievo delle *lacerazioni muscolari*. L'aspetto è quello di aree iperintense più o meno estese nel contesto del ventre muscolare coinvolto; questo risulta peraltro aumentato di volume per la reazione edemigena dovuta al trauma. L'*edema* determina una diffusa iperintensità di segnale.

Le lacerazioni muscolari acute si accompagnano solitamente a sanguinamento. In fase acuta le *emorragie intramuscolari* presentano valori di $T_2$ più elevati rispetto al m. normale, risultando iperintense. Negli ematomi intramuscolari si possono osservare modificazioni del segnale relative all'epoca di comparsa. In fase subacuta-cronica, le modificazioni cui va incontro l'emoglobina determinano in genere una iperintensità di segnale evidente sia nelle sequenze $T_1$ che in quelle $T_2$ (fig. 16).

La RMN consente una accurata dimostrazione delle lesioni traumatiche dei *tendini* di calibro maggiore, rilevandone la discontinuità in caso di interruzione completa o dimostrando la presenza di segnale di alterata intensità nel loro contesto in caso di lesione parziale. Anche in tale circostanza le immagini $T_2$-pesate risultano le più indicate nel rilevare la patologia.



Digitized by Google

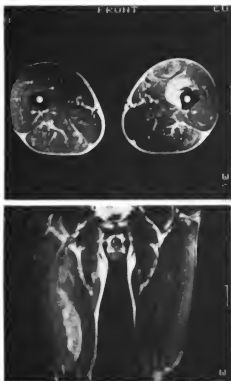



Fig. 16. Ematoma subacuto del quadricipite. Sezioni RMN assiale (*in alto*) e coronale (*in basso*), $T_1$-pesate. Presenza di vasta area iperintensa a carico del quadricipite di destra.

*Patologia flogistica*

La RMN risulta superiore alle altre tecniche di diagnosi per immagine nel rilevare il coinvolgimento muscolare nelle malattie infettive.

Nelle *miositi*, la RMN permette di accertare le modificazioni infiammatorie, la sostituzione adiposa e l'atrofia muscolare, che costituiscono le diverse fasi di queste condizioni patologiche. Le modificazioni infiammatorie determinano una diffusa iperintensità di segnale del gruppo muscolare coinvolto nelle sequenze $T_2$-pesate.

Gli *ascessi* si presentano come lesioni espansive con area centrale iperintensa e pseudocapsula periferica di minore intensità (fig. 17).

Contrariamente a quanto si verifica con la TC, in RMN risulta difficile il rilievo delle raccolte gassose nel contesto della lesione.

*Lesioni espansive*

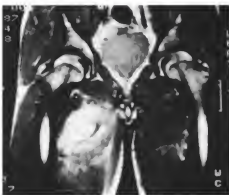
La RMN si è dimostrata utile nell'accertamento delle masse tumorali muscolari primitive e metastatiche (fig. 19) non evidenti all'esame clinico; ciò è particolarmente vero nel caso dei sarcomi.



Fig. 17. Raccolta ascessuale della loggia degli adduttori. Sezione RMN coronale, pesata in densità protonica. Presenza di raccolta fluida iperintensa nella loggia degli adduttori a destra, circondata da reazione edemigena (diffusa iperintensità di segnale).

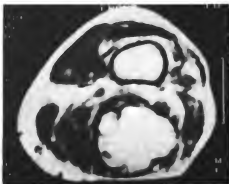



Fig. 18. Lesione espansiva solida della loggia posteriore della coscia destra. Sezioni RMN assiale (*in alto*) e sagittale (*in basso*), $T_1$-pesate.



Digitized by Google

Un accurato esame di RMN può in effetti accertare o escludere, con notevole attendibilità, la presenza nel m. di tessuto patologico neoformato. La RMN si è dimostrata utile anche nella caratterizzazione, nella stadiazione e nel *follow-up* dei tumori muscolari. La RMN può dimostrare i rapporti del tumore con le strutture muscolari, la cavità articolare, i fasci nervosi, i vasi e inoltre con il tessuto osseo (fig. 18). Per quanto riguarda le strutture vascolari, può essere valutato il coinvolgimento o lo spostamento dei vasi senza infiltrazione. Le sezioni assiali permettono di ottenere informazioni sull'estensione locale del tumore e sui rapporti con le strutture circostanti, mentre le sezioni sagittali e coronali permettono di valutare l'estensione cranio-caudale della lesione ed il coinvolgimento delle cavità articolari e dei vasi di calibro maggiore; la RMN ha determinato una notevole riduzione degli esami angiografici.

Una singola sequenza RMN, in ogni caso, non è assolutamente sufficiente per valutare una neoplasia dei tessuti molli; sono infatti necessarie immagini sia $T_1$- che $T_2$- pesate, ottenute su piani multipli (fig. 19).

L'invasione della corticale ossea da parte di neoformazioni muscolari comporta un'interruzione della normale assenza del segnale della corticale sia nelle sequenze $T_1$ che in quelle $T_2$- pesate. L'invasione della cavità midollare comporta una ipointensità del segnale del midollo osseo che, in condizioni di normalità, è iperintenso in rapporto alla presenza di tessuto adiposo; la ipointensità del segnale del midollo osseo in $T_1$ è indicativa di invasione della cavità midollare. Nell'invasione delle cavità articolari, la RMN è in grado di dimostrare la presenza di una massa di tessuto molle che si sviluppa oltre i confini della capsula articolare con coinvolgimento dei tendini e dei legamenti.

La RMN è risultata una tecnica accurata nella valutazione della persistenza o recidiva di malattia nei pazienti sottoposti ad intervento chirurgico o terapia radiante per neoplasie del m. (e, in genere, dei tessuti molli). Infatti, il reperto di area di bassa intensità di segnale nei pazienti sottoposti a terapia è indicativo di assenza di neoplasia; la sensibilità della tecnica è del 96%. Viceversa, il reperto di alta intensità di segnale in $T_2$ è indicativo di persistenza o recidiva di malattia, con una sensibilità del 70%. Nei pazienti trattati con terapia radiante è difficile la diagnosi differenziale in RMN tra recidiva tumorale e modificazioni postirradiatorie: entrambe le situazioni si presentano come aree ipointense in $T_1$ ed iperintense in $T_2$. Le modificazioni postradianti perdurano da un mese sino a 4 anni dopo la fine della terapia.

Fig. 19. Metastasi di carcinoma renale nel gastrocnemio destro. Sezione RMN coronale, pesata in densità protonica.

**Bibliografia**


Aisen A. M., Martel W., Braunstein E. M. *et al.*, *AJR*, 1986, **146**, 746.
Bekira J., Noto A. M., Mc Ghee R. B. *et al.*, *Radiology*, 1987, **164**, 449.
Berthoty D. P., Shulman H. S., Miller H. A. B., *Radiology*, 1986, **160**, 341.
Brown K. T., Kattapuram S. V., Rosenthal D. I., *Skel. Radiol.*, 1989, **15**, 448.
Change A. E. *et al.*, *Radiology*, 1987, **165**, 590.
Hudson T. M., Bertoni F., Enneking W. F., *J. Canad. Assoc. Radiol.*, 1986, **37**, 248.
Hudson T. M., Schakel M., Springfield D. S., *Skel. Radiol.*, 1985, **13**, 49.
Lamki N., Hutton L., Wall W. J., Rorabeck C. H., *JCT*, 1984, **8**, 249.
Liu P., Daneman A., Stringer D. A. *et al.*, *J. Canad. Assoc. Radiol.*, 1986, **37**, 248.
McLeod A. J., Zornara J., Shirkoda A., *Radiology*, 1984, **152**, 133.
Paajanen H., Brasch R. M., Shmiedl U. *et al.*, *Acta Radiol.*, 1987, **28**, 79.
Petasnick J. P., Turner D. A., Charters J. R. *et al.*, *Radiology*, 1986, **160**, 126.
Petterson H., Gillersby T. III, Hamlin D. J. *et al.*, *Radiology*, 1987, **164**, 237.
Reining J. W., Hill S. C., Fang M. *et al.*, *Radiology*, 1986, **159**, 153.
Rosenthal D. J., Scott J. A., Brady T. J., *Cardiovasc. Intervent. Radiol.*, 1986, **8**, 377.
Sundaram M., Mc Guire M. H., Herbold D. R. *et al.*, *Skel. Radiol.*, 1987, **16**, 30.
Sundaram M., Mc Guire M. H., Schajowicz F., *AJR*, 1987, **148**, 1247.
Totty W. G., Murphy W. A., Lee J. K. T., *Radiology*, 1986, **160**, 135.
Weekes R. G., Mc Leod R. A., Reiman H. N. *et al.*, *AJR*, 1985, **144**, 355.
Zlatkin M. B., Lander P. H., Begin L. R. *et al.*, *AJR*, 1985, **144**, 1263.


GIANFRANCO GUALDI, CLAUDIO DI BIASI, ALBERTO PINGI E GUIDO TRASIMENI

## FISIOPATOLOGIA E PATOLOGIA GENERALE

SOMMARIO



### Struttura e interazioni substrutturali macromolecolari

Le ulteriori indagini morfologiche della substruttura delle fibre muscolari non hanno portato cambiamenti sostanziali allo schema ben noto del sistema di filamenti spessi e sottili tesi fra le due *linee Z* o *telofragmi*, di diversa lunghezza e perciò capaci di scivolare e temporaneamente agganciarsi gli uni su gli altri nella contrazione, appunto determinandola. Gli studi si sono perciò rivolti principalmente alla rilevanza delle variazioni adattative che nelle diverse specie o nei vari organi subisce la struttura fondamentale delle fibre striate dei mammiferi e degli insetti per specializzazioni funzionali: la creazione di ultrasuoni, la differenziazione di organi elettrici, l'adattamento alla funzione cardiaca.

Naturalmente, molti particolari strutturali rimangono da chiarire, ma essi non sono tanto entità morfologiche nel senso classico del termine (cioè microscopicamente rilevanti), quanto rapporti tra le strutture terziarie e quaternarie delle individualità proteiche interferenti nell'architettura morfologica e interagenti nella contrazione. Semmai un punto saliente della struttura non ancora chiarito è la costituzione del telofragma, dei suoi rapporti con i filamenti sottili e dei vari telofragmi fra loro e, alla periferia della fibra, con il sarcolemma ed altri costituenti sarcoplasmatici (sistema sarcotubulare) e, infine, col mesenchima circostante alla fibra (membrana basale), tutti rapporti che realizzano anche la tenuta in registro delle varie fibre entro un fascetto muscolare macroscopico.

Maggiori progressi ha fatto lo studio morfologico delle strutture annesse a quelle fondamentali della contrattilità, e cioè la struttura del reticolo endoplasmico o *sistema sarcotubulare* e dei suoi rapporti con l'altro *sistema tubulare T* che deriva dalla membrana della fibra e che costituisce il mezzo di trasporto dell'eccitamento (v. sotto).

Dal punto di vista delle interazioni macromolecolari che sottostanno alle strutture microscopicamente visibili del mioplasma, si sono abbastanza approfonditi gli studi sui rapporti periodici fra i filamenti di actina e quelli di miosina, variabili a seconda del ciclo contrazione-rilasciamento quale è determinato dal flusso ionico del calcio e dall'ATPasi, ma è anche regolato dalla presenza delle altre proteine regolative quali la tropomiosina e la troponina, le quali permettono o meno il rapporto spaziale e quindi il legame dei filamenti di actina con le teste dei filamenti miosinici.

La possibilità di isolare in forma pura le varie proteine impegnate nella contrazione, actina, miosina, tropomiosina e troponina, ha permesso di approfondire e correggere le informazioni sui mutevoli rapporti spaziali nell'attività funzionale (Knight e Trinick, 1987; Cohen e Vibert, 1987). È stato anche constatato che i filamenti di actina sono particolarmente inestensibili, il che è buona testimonianza del modello dello slittamento.

Ricerche importanti sono state anche condotte mediante la diffrazione dei raggi X, ed è stato così confermato che nella contrazione la testa della molecola miosinica subisce una rotazione copulandosi con l'actina (Lowy e Poulsen, 1987).

**Controllo del differenziamento**

Importanti acquisizioni si sono poi recentemente ottenute con le indagini sulla regolazione del differenziamento di un così complesso apparato cellulare quale è la fibra muscolare striata. Tale differenziazione è infatti il risultato della operatività di particolari geni che si esprimono normalmente nei mioblasti e poi nei miotubi, ma che possono essere attivati, con opportuni interventi sperimentali, anche in altre cellule.

Nel 1987 R. L. Davis *et al.* hanno identificato un gene regolatore, che è stato denominato *MyoD1* e che è risultato necessario all'innesco del processo differenziativo del mioplasma. In seguito, sono stati trovati e isolati altri tre geni consimili, denominati rispettivamente *Myogenin* (Wright *et al.*, 1989), agente in un dominio genetico omologo a quello del *MyoD1*, *Myf-5* (Braun *et al.*, 1989), correlato, ma distinto dal *MyoD1*, e infine *Mrf-4* (Rhodes e Konieczy, 1989). È assai probabile che questi geni differenzianti, che sono presenti nelle cellule miogeniche del sistema muscolare dei mammiferi come in quello degli insetti (*Drosophila*), ma che invece non sono stati ancora trovati — o forse mancano — nelle cellule dell'abbozzo cardiaco, cooperino fra loro in modo determinante e regolativo insieme. La riprova è venuta da esperimenti di trasferimento mediante transfezione di tale materiale genico in fibroblasti: questi divengono dei mioblasti nel senso che si mettono a esprimere le proteine plasmatiche e contrattili muscolari (si noti peraltro che le più importanti di quest'ultime, quali l'actina e la miosina, si trovano normalmente espresse in misura molto piccola in molte altre cellule e l'actina sembra in tutte); ma qui si vuol dire che la regolazione genica si sposta massicciamente nel senso miogenico, tanto che quei fibroblasti diverrebbero di fatto mioblasti. Lo stesso risultato, però, non è stato ottenuto con cellule diverse da quelle mesenchimali, per es. con epatociti.

L'espressione definitiva in proteine muscolari (contrattili, enzimatiche come la creatinfosfochinasi, la mioglobina ed altre) sembra avvenire tramite prodotti proteici primari che a loro volta regolano l'espressione delle proteine specifiche, differenziate. Accanto a queste sequenze geniche regolatrici a effetto positivo sull'espressione sono state individuate anche altre sequenze che invece hanno effetto inibitore sulla stessa espressione genica; si tratta di sequenze simili a quelle attivatrici (come il *MyoD1*), ma invece capaci di inattivare queste ultime formando con esse degli eterodimeri, sequestrando cioè l'attivatore (Benezra *et al.*, 1990).

Una notevole incognita rimane la differenziazione delle fibre muscolari cardiache, la cui struttura finale è, almeno per alcuni versi, assai vicina a quella delle fibre scheletriche. Abbiamo però già notato che le fibrocellule cardiache non esprimono gli stessi geni regolatori che sono stati individuati per le fibre scheletriche, e d'altronde tutta la biologia e la fisiopatologia delle fibre miocardiche acquista caratteri sempre più specifici anche dal punto di vista molecolare; per la *miosina* la novità più rilevante è la constatazione della esistenza di due principali isoforme, alfa e beta, codificate da due geni distinti la cui espressione, mentre è permanentemente sotto il controllo dell'ormone tiroideo, è anche modulabile da fattori meccanici, pressori. La sintesi delle forme alfa delle catene miosiniche è incrementata negli stati di ipertiroidismo (che peraltro influiscono notoriamente anche sul muscolo scheletrico), mentre la sintesi delle forme beta è maggiormente sotto il controllo dei fattori meccanici e la giustapposizione quantitativa delle due forme rende ragione delle proprietà funzionali del miocardio in diverse circostanze normali e patologiche (Izumo e Mahdavi, 1988).

**Il $Ca^{2+}$ come messaggero secondario fondamentale per il sistema contrattile**

Anche la troponina (con le sue subunità) e il complesso troponina-tropomiosina rappresentano, tanto nel m. scheletrico quanto nel miocardio, un sistema perno per realizzare o meno la contrazione giocando sulla presenza del $Ca^{2+}$, sul suo legame con la troponina C e così permettendo o meno l'interazione actomiosinica, ossia appunto la contrazione (Carafoli e Penniston, 1985; 1986; Salviati, 1982).

Il fatto noto da tempo dalla fisiologia che lo stiramento o allungamento preventivo delle fibre muscolari (scheletriche o cardiache) conduce ad una più valida forza contrattile (la vecchia legge di Starling) è spiegabile proprio perché quello stiramento o allungamento provoca una modificazione della morfologia delle subunità della troponina e una conseguente diversa sensibilità al $Ca^{2+}$, che è il messaggero secondario intracellulare della contrazione.

D'altra parte la regolazione del $Ca^{2+}$ intracellulare a sua volta dipende dal funzionamento dei ricordati sistemi di canali morfologici, il T e quello endoplasmico, ma anche, a





Digitized by Google

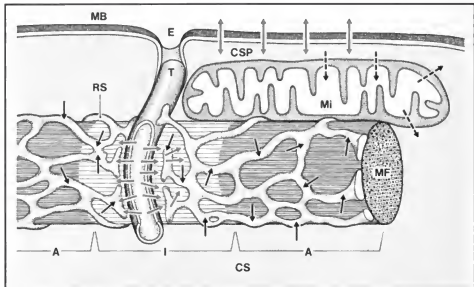



Fig. 20. Scambio degli ioni calcio attraverso le varie strutture delle fibre muscolari striate. È rappresentata schematicamente la porzione più esterna di un segmento della sezione longitudinale di una fibra muscolare con le seguenti substrutture e organuli: MB, membrana provvista dello strato basale, più esterno; sotto la membrana uno strato di citosol indifferenziato (CSP, CS), un mitocondrio (Mi) e la sezione parziale di una miofibrilla (MF); T, tubulo trasverso che proviene dalla membrana e che al livello E penetra entro la fibra e investe il fascio delle miofibrille; il livello del decorso del T corrisponde più o meno alla metà della porzione I (isotropa) delle miofibrille col relativo telofragma, ed è occupato solo dai filamenti (sottili) di actina; alle sue estremità si vedono da ambo i lati porzioni dei tratti anisotropi (A) contenenti anche i filamenti (spessi) di miosina.

Sulla miofibrilla è disteso un sistema di tubuli sinuosi che costituisce il reticolo sarcoplasmatico (RS), variante muscolare del generale reticolo endoplasmatico delle cellule. Le porzioni di tale sistema che si trovano adiacenti al tubulo trasverso (sistema T) prendono con esso contatti cospicui da una parte e dall'altra del T (sistema delle triadi, giunzioni T-RS) con dilatazioni cisternali attraverso le quali avvengono scambi vari e soprattutto ionici. Qui sono rappresentati gli scambi degli ioni calcio, la concentrazione dei quali regola, legandosi a proteine e interferendo con quelle proprie delle strutture mioplasmatiche, l'avvicendarsi della contrazione e del rilasciamento. *In blu* sono rappresentati gli scambi al livello delle giunzioni ove la concentrazione notevole del $Ca^{2+}$ sospinge il passaggio di tale ione dal RS al mioplasma. *In nero* sono rappresentati i siti di collocazione, nel RS, della ATPasi che riprende $Ca^{2+}$ dal citosol e dal mioplasma e lo reintroduce nel RS. Scambio vicendevole di ione calcio si effettua anche direttamente attraverso la membrana tra l'ambiente esterno alla fibra e il citosol periferico (CSP). Le *frecce tratteggiate* indicano gli scambi di $Ca^{2+}$ tra citosol e matrice mitocondriale. (*Da E. Carafoli et al., 1985, modificata e semplificata*).

loro volta, dalle canalizzazioni substrutturali e pompe delle relative membrane (in assai minor misura dalle membrane mitocondriali) e dallo stato delle proteine specifiche trasportatrici del calcio (calmodulina [v.*], calsequestrina, etc.) e cooperanti per una vera e propria «omeostasi del $Ca^{2+}$» (Carafoli, 1986; 1989). Particolarmente analizzato è stato il rapporto ultrastrutturale tra sistema tubulare T e quello sarcoplasmatico a livello delle cosiddette triadi e cioè in corrispondenza delle cisterne del reticolo ove sembra chiaro che si stabilisce una specie di continuità molecolare tra i due sistemi per mezzo della quale si verifica la migrazione del $Ca^{2+}$ e quindi la regolazione funzionale del sistema nelle sue fasi di eccitamento, di contrazione e di rilasciamento (fig. 20). Si conosce anche la derivazione genica di alcune delle strutture implicate (che sono differenti per il miocardio) ed anche una forma ereditaria di miopatia del topo che dipende dalla presenza o meno di quelle strutture.

**Note ontogenetiche**

È naturalmente molto importante che tutte le caratteristiche ora descritte sia a livello morfologico substrutturale, sia a quello sottostante macro- e micromolecolare e infine a quello funzionale possano essere studiate anche nella loro normale ontogenesi, e correlativamente, nei processi rigenerativi dopo danno strutturale e quindi a seguito di alterazione muscolare generica o specificamente miopatica. Come vedremo, infatti, alcune nozioni su questo settore della biologia muscolare hanno rilevanza nella patogenesi e nel possibile recupero di forme miopatiche. Intanto sappiamo che la differenziazione postnatale dei vari tipi di fibre (toniche, cloniche rapide e lente) è solo in parte geneticamente determinata e che vi ha larga influenza il tipo di innervazione e quindi la collocazione stessa delle fibre in uno o l'altro tipo di m. Le transizioni ontogenetiche (e anche verosimilmente quelle rigenerative) non riguardano ovviamente solo i caratteri del mioplasma, bensì anche quelli del sarcoplasma e in particolare del sistema sarcotubulare che nell'ontogenesi si differenzia dal generico reticolo endoplasmico fondamentale di ogni cellula. Insieme alla ontogenesi del reticolo sarcoplasmatico in quanto struttura, si verifica anche una sua maturazione, specie nei con-



Digitized by Google

fronti dei suoi rapporti circa la transizione degli ioni calcio (Margreth *et al.*, 1982).

Per quel che riguarda i diversi tipi di miosina (isoenzimi miosinici), presenti in varia quantità nelle fibre muscolari a seconda del loro tipo funzionale, è stato visto che in coltura i loro rapporti specifici dipendono dalla possibile innervazione sperimentale, ma non nella stessa misura in cui avviene per l'esercizio muscolare effettivo (Schiaffino *et al.*, 1982).

Anche nella rigenerazione muscolare, frequente nel corso e a seguito di varie patologie, si verificano alternanze nella natura molecolare delle catene pesanti dei tipi delle miosine, da quelle fetali a quelle adulte (Margreth *et al.*, 1982). Ma, indipendentemente dai fenomeni rigenerativi, la natura molecolare della miosina prevalente nelle fibre muscolari può modificarsi nei vari casi della patologia muscolare, specie se a carattere genetico diretto o indiretto; per es. nella miopatia nemalinica, in cui si osserva una prevalenza delle fibre di tipo 1, a bassa attività ATPasica, si verifica un corrispettivo spostamento del carattere della miosina, dal tipo rapido a quello lento (Margreth *et al.*, 1982).

**Indagini di laboratorio per la nosologia muscolare**

Le indagini strumentali e di laboratorio atte a discriminare lo stato del tessuto muscolare in corso di miopatia, ai fini di una corretta diagnosi, sono cresciute di numero e perfezionate così da ridurre in qualche misura la necessità di una biopsia, o per lo meno del ripetersi di biopsie. D'altra parte queste si possono ridurre a un minimo di fastidio e di danno utilizzando aghi appositi e orientabili. È comunque sempre importante stabilire il rapporto tra lesioni fisiologiche e tipi di fibre implicate, come la formazione di fascetti monotipici.

Un dato morfologico che si è ritenuto discriminante nella valutazione della gravità e reversibilità della miopatia è stato quello dei fenomeni rigenerativi; tuttavia la sua importanza è da ritenersi modesta poiché fenomeni rigenerativi si riscontrano quasi sempre accanto a quelli degenerativi, ma spesso sono episodi abortivi e lo sono anche nelle forme ereditarie, come nella distrofia di Duchenne, poiché la delezione genica si può esprimere solo a un certo stadio della differenziazione e non nei mioblasti o nei miotubi. Semmai meccanismi di compenso sono considerati, specie nelle forme neuromiopatiche, i fenomeni di scissione longitudinale delle fibre muscolari (*splitting*).

All'elettromiografia, che si è avvantaggiata di nuovi tipi di elettrodi e si è spinta fino all'uso di elettrodi per il rilevamento elettromiografico di singole fibre, si associano ora l'uso della spettroscopia a risonanza magnetica nucleare (RMN) e l'esplorazione computerizzata ai raggi X o mediante radionuclidi. Per la parte nervosa del neuromione si possono condurre studi sulla conduttività nervosa e sull'efficienza dei motoneuroni come delle placche motrici.

Dal punto di vista biochimico le indagini sono ancora limitate alla determinazione del livello ematico di creatinfosfochinasi (CPK) e di altri enzimi e della loro eventuale comparsa nelle urine. Ma le speranze in questo settore sono prevalentemente affidate al progresso delle indagini ottenibile con l'impiego della spettroscopia a RMN. È noto che nelle forme con larga, contemporanea distruzione o scompaginamento di fibre muscolari è rintracciabile nella urina anche la mioglobina (mioglobinuria), come avviene nella sindrome da schiacciamento (ischemia diffusa) e nell'ipertermia maligna.

**Recenti progressi sulla conoscenza delle miopatie umane**

Quantitativamente e qualitativamente le conoscenze sulle miopatie di origine neuronale non sono molto variate negli ultimi dieci anni. Invece, hanno preso stanza nella conoscenza della nosologia miopatica in prevalenza le forme metaboliche ed endocrine. Una piccola aliquota di nuove miopatie è quella rispondente a cause virali, mentre si tornano a mettere in evidenza coincidenze miopatiche in corso di malattie tumorali. Acquisizioni di grande importanza si sono poi ottenute nello studio delle distrofie da delezione genica, in particolare per le due forme molto affini, Duchenne e Becker. Infine lo studio delle disfunzioni delle fibre muscolari striate ha offerto argomenti per l'interpretazione di alcune importanti forme alterative della struttura e della funzione del miocardio, che peraltro di regola è invece risparmiato tanto nelle miopatie sperimentali (per es. da avitaminosi E), quanto nelle forme miopatiche umane, almeno per un lungo periodo della malattia.

*Miopatie metaboliche*

Sono le alterazioni muscolari occorrenti nel corso di disfunzioni metaboliche, per lo più ereditarie e generali, cioè non specificamente muscolari. Fra le più importanti ricordiamo alcune glicogenosi, le lipidosi muscolari, tutte le miopatie mitocondriali, comprese quelle acquisite, la cosiddetta paralisi periodica nelle sue forme ereditarie e acquisite (e tutte associate a variazioni della potassiemia), le miopatie da tossici esogeni, ivi compresa la forma associata alla iperpiressia maligna, che peraltro rientra nel novero delle miopatie mitocondriali acquisite per un difetto genetico situato altrove.

Naturalmente sono da considerarsi di natura metabolica anche le forme miopatiche legate a disfunzioni endocrine, tiroidee e non tiroidee.

1. *Miopatia nel corso di glicogenosi.* – In quasi tutte, ma non in tutte le glicogenosi, vi è una compromissione metabolica delle fibre muscolari striate; tuttavia, solo in alcune forme si può parlare di vera e propria condizione miopatica con lesioni strutturali delle fibre variamente evidenti: ciò accade nella glicogenosi di tipo II (malattia di Pompe, deficienza di maltasi acida), in quella di tipo III (malattia di Cori, deficienza dell'enzima deramificante nella sintesi del glicogeno), nella glicogenosi di tipo V (malattia di McArdle, deficienza di miofosforilasi) e nella glicogenosi di tipo VII (deficienza di fosfofruttochinasi). Oltre alle documentabili deficienze enzimatiche possono coesistere lesioni gravi della compagine delle fibre (vacuolizzazioni anche estreme, degenerazioni del mioplasma), ma ciò solo nelle glicogenosi di tipo V e di tipo VII: difatti, le due deficienze appartengono alla stessa catena metabolica (v. GLICOGENOSI).

2. *Miopatie mitocondriali.* – Il primo caso di questa miopatia è stato descritto da R. Luft *et al.*, nel 1962, ma oggi le miopatie mitocondriali sono conosciute come diverse entità patologiche non infrequenti (Di Mauro *et al.*, 1985); non rispondono tutte ad uno stesso difetto metabolico, quelle più gravi, però, interessano comunque e in qualche modo la catena respiratoria, che è appunto dei mitocondri. Ma dal punto di vista clinico esse non sono affatto omogenee, mentre in comune hanno un carattere patomorfologico delle fibre muscolari costituito dalla presenza di accumuli sottosarcolemmatici di mitocondri, che spesso formano delle vere e proprie piccole calotte periferiche alle fibre (per la colorazione col Gomori prendono il nome di *ragged-red fibers*: RRF) nelle quali i mitocondri possono essere molto alterati, ma talora anche in apparenza normali. Le alterazioni consistono principalmente in vacuolizzazioni, inclusioni di gocce lipidiche e di strutture paracristalline, distruzioni delle *cristae*.

È evidente che, data la posizione centrale dei mitocondri nelle varie catene metaboliche muscolari che poi portano al comune smaltimento ossidativo dei metaboliti, forme etio-





Digitized by Google

patogeneticamente diverse di miopatia metabolica possono convergere nella formazione delle *ragged-red fibers*, sia pure con diversa frequenza e gravità di lesione. Il difetto metabolico può infatti consistere in un'alterazione della utilizzazione di determinati substrati (per responsabilità genetica o acquisita), o in un'alterazione funzionale della catena metabolica o, infine, nell'incapacità di utilizzare la energia prodotta al compimento operativo di quella catena.

Tra i difetti di utilizzazione di substrati si possono ricordare quello riguardante l'utilizzazione del piruvato, che può portare, nella prima infanzia, a una situazione molto grave e letale, coinvolgente non solo i m. ma anche il sistema nervoso; oppure il difetto di utilizzazione della carnitina (v.*), con accumulo di lipidi nelle fibre (lipidosi) per deficienza dell'enzima carnitin-palmitil-transferasi, oppure per difetto della stessa produzione della carnitina da parte del fegato.

I difetti di funzionamento della catena respiratoria (trasporto elettronico lungo la catena), dovuti a delezione genica generale o settoriale di qualche passo enzimatico, possono esprimersi come sindromi diverse e molto gravi, insorgenti fin dalla prima infanzia o poco dopo, e coinvolgenti spesso, come è facilmente comprensibile, un numero notevole di strutture e funzioni organismiche essenziali, comprese quelle del S.N.C. e degli organi di senso. La diagnosi è facilitata dalle indagini con la spettroscopia a RMN orientata alla ricerca dei prodotti fosforati.

Sono però state messe in evidenza (Di Mauro *et al.*, 1985) alcune sindromi meno gravi perché meno estese e pertanto più specificamente miopatiche e caratterizzate, fra l'altro, da notevole debolezza e stancabilità muscolare; in esse si constata deficienza muscolare di creatinfosfato e, all'opposto, aumento di ADP e di P inorganico, proprio per il difetto funzionale della catena respiratoria, onde il basso recupero di ATP dopo esercizio. La biopsia dimostra caratteri simili a quelli delle miopatie mitocondriali con le fibre di tipo 1 ipotrofiche e presentanti le tipiche calotte mitocondriali (*ragged-red fibers*).

A un difetto del recupero energetico da parte mitocondriale per una dissociazione dei processi ossidativi da quelli fosforilanti si fa risalire anche una rara sindrome descritta clinicamente per la prima volta, come sopra citato, da Luft *et al.* nel 1962, ma riportata a quell'essenziale difetto biochimico da Di Mauro *et al.* nel 1976: è caratterizzata da ipertermia, sudorazione, polidipsia, intolleranza al calore ambientale e fatieabilità, quest'ultima riportabile facilmente alla perdita di rendimento della macchina contrattile per esauribilità delle fonti energetiche (si confronti con il caso seguente della ipertermia maligna).

Una miopatia mitocondriale può generarsi anche per un difetto genico del DNA mitocondriale, come è stato assai di recente messo in evidenza (Di Mauro *et al.*, 1989). In questi casi si tratta essenzialmente di una distrofia dei muscoli estrinseci dell'occhio (oftalmoplegia), spesso, ma non sempre, associata a sindromi encefalopatiche (v. KEARNSAYRE, SINDROME DI*). Resta ancora oscuro il processo per cui una delezione del DNA mitocondriale (quindi a trasmissione esclusivamente materna) colpisca solo una parte dei tessuti, muscolari e no.

V. MITOCONDRI*.

3. *Ipertermia maligna.* – L'ipertermia maligna o iperpiressia fulminante (v.*) è una sindrome descritta prima nel maiale e poi anche nell'uomo ed è un evento patologico clamoroso a fondo genetico, ma che interviene fenotipicamente dopo un evento esterno, ad es. in seguito a certi tipi di anestesia indotti da anestetici alogenati e volatili come l'alotano, oppure in seguito all'uso di miorilassanti come la succinilcolina (v. ANESTESIA CHIRURGICA*). Talora può intervenire dopo l'assunzione di farmaci simpaticomimetici o dopo un forte eimento muscolare e psichico. La temperatura corporea si eleva di molto e nei casi mortali può raggiungere anche i 42-44 °C. La suscettibilità agli agenti scatenanti è nell'uomo un carattere dominante, mentre nel maiale è recessivo e quindi realizzantesi solo negli omozigoti.

Indagini patogenetiche hanno dimostrato che nei soggetti geneticamente predisposti la somministrazione di alotano (v. ANESTETICI*) determina un aumento della concentrazione di ioni Ca nel mioplasma della fibra muscolare a riposo: in effetti nei maiali omozigoti per il difetto si è riscontrata un'alterazione del funzionamento dei canali molecolari assicuranti un normale efflusso del calcio attraverso il sarcolemma. Più precisamente, usando l'alcaloide rianodina come indicatore della estensione della recettività allo ione Ca e quindi del suo trasporto nei soggetti suscettibili, ivi compreso l'uomo, si è accertato che il difetto primario sta effettivamente in una *mutazione genetica* che si esprime come alterazione a carico del canale di efflusso dello ione Ca. La proteina espressa dal gene mutato (nell'uomo situato nel cromosoma 19) risulta essere più sensibile alle sostanze che inducono il rilascio del calcio nel citosol, oltre il reticolo sarcoplasmatico.

La sindrome è inizialmente caratterizzata da tachicardia con aritmia ventricolare multifocale e tachipnea, seguite poi da rigidità muscolare e, all'opposto, bradicardia aritmica e ipotensione, mentre la temperatura corporea aumenta rapidamente: si ha caduta della calcemia (corrispettivo dell'aumento dello ione calcio all'intorno del mioplasma e causa della rigidità muscolare), iperkaliemia e mioglobinuria (quest'ultima annunziante gravi lesioni substrutturali, che però non sempre arrivano a essere molto evidenti sul piano morfologico) e creatinuria per ipercreatinemia.

L'abnorme produzione di calore deriva tanto da un'esaltazione dei processi glicolitici, quanto (e soprattutto per la penetrazione di eccesso di calcio dentro i mitocondri) dal disaccoppiamento mitocondriale, onde i processi ossidativi non conducono a immagazzinamento dell'energia prodotta in ATP, ma invece sono attivate le fosforilasi e v'è eccesso di ADP. I mitocondri infatti possono essere molto alterati anche sul piano morfologico, con vacuolizzazioni, rigonfiamento, perdita delle *cristae* e inclusioni paracristalline; alla fine tutta la fibra può apparire degenerata, onde la mioglobinuria (questo è naturalmente un carattere aspecifico di ogni lesione grave ed acuta delle fibre muscolari striate: si pensi, per es., alla sindrome da schiacciamento: *rabdomiolisi*; v. anche RABDOMIOLITICHE SINDROMI*).

È nota l'efficacia del dantrolene (v.*) nel modificare la prognosi di questa malattia.

4. *Paralisi periodiche.* – Il comune disturbo è quello di una debolezza o incapacità motoria che interviene dopo un periodo di accentuata attività; si possono verificare in una varietà di condizioni predisponenti e pertanto si hanno gruppi etiopatogenetici distinti, tutti peraltro associati a disturbi della distribuzione intra- ed extracellulare del potassio più o meno accentuati. Sono infatti riconosciuti fugaci periodi di debolezza o paralisi muscolare nei quali si può riscontrare, ma non in tutti i casi, una variazione ematica dello ione potassio, sia nel senso di un incremento, sia di un decremento rispetto ai valori medi normali, o anche senza tali variazioni: paralisi periodiche ipokaliemiche, iperkaliemiche o normokaliemiche. Possono avere una etiologia genetica, e sono le più importanti, anche se rare, oppure dipendere da alterazioni della crasi ematica, secondarie ad altre patologie, quali la deplezione potassica da malattie gastrointestinali, da eccesso di diuretici, da malattie renali; oppure si tratta di fattori tossici esogeni come l'eccesso



Digitized by Google

acuto o cronico di alcol, o endogeni come nella tireotossicosi.

Nella forma genetica, cioè familiare, si riscontrano gravi alterazioni del sistema sarcotubulare, con dilatazioni cospicue delle cisterne e dei tubi che, all'estremo, si fanno visibili anche al microscopio ottico in forma di vacuolizzazioni centrali delle fibre (v. PARALISI FAMILIARE PERIODICA). Gli attacchi possono essere artificialmente provocati, anche per studiare la natura del disordine, mediante somministrazione di abbondanti quantità di glicoso eventualmente insieme ad insulina.

5. *Miopatie da tossici esogeni.* – All'infuori dei casi sperimentali, ove sarebbero da ricordare le miopatie da avitaminosi E, essenzialmente dovute ad accumulo di radicali liberi da iperossidazione, nella patologia umana il caso più noto e studiato è quello della *miopatia da alcolismo cronico*. Tuttavia si riscontrano anche forme da alcolismo acuto che si confondono con quelle delle paralisi periodiche. Nel caso sopra citato della iperpiressia maligna da anestetici e da altri farmaci simpaticomimetici queste sostanze agiscono solo su un terreno geneticamente predisposto e tale meccanismo può essere invocato in altre circostanze nosologiche non ancora ben chiarite.

6. *Miopatie da tossici endogeni e da endocrinopatie.* – Disfunzioni notevoli del metabolismo interferiscono con lo stato dei nervi motori, come avviene nelle sindromi uremiche e diabetiche, e indirettamente, quindi, anche con lo stato dei m.; ma si descrivono anche effetti diretti sulle fibre muscolari. Così per le forme di origine immunologica (miopatie autoimmunitarie): è frequente, all'esame di biopsie muscolari in corso di sindromi miopatiche, riscontrare accumuli plasmacellulari all'intorno di fibre alterate, indice di una reazione primitiva o secondaria del sistema immunitario.

Tra le endocrinopatie, si ricorda che lesioni muscolari si riscontrano sia nelle condizioni di ipertiroidismo, sia in quelle, all'opposto, di ipotiroidismo. Nelle prime si nota atrofia delle fibre e, nei casi cronicizzati, accumuli cospicui di «pigmenti da usura» iperossidati e subsarcolemmali, indice di un catabolismo accentuato; talora vi è confluenza con una qualche forma di paralisi periodica; nell'ipotiroidismo vi può essere aumento volumetrico di alcuni m. dovuto a mixedema, frequenza di crampi o spasmi dolorosi.

Sintomi miopatici si ricordano anche in corso di disfunzioni paratiroidee (con osteomalacia) e adrenopatiche.

*Miopatie e neuromiopatie nel corso di malattie virali*

Oltre al caso ben noto della grave miopatia e miocardiopatia del topino neonato, dovuta a un virus del tipo NewCastle, coincidenze di lesioni muscolari non genericamente miositiche nel corso di virosi umane sono assai scarse e dubbie. Semmai, in quasi tutti i casi si tratta di modificazioni fisiopatologiche dei m. secondarie a lesioni nervose e rilevabili principalmente mediante l'elettromiogramma. Ultimamente sono state però descritte forme neuropatiche e miopatiche apparente conseguenza della infezione dal retrovirus dell'AIDS (Wiley, 1989). Ma a parte la possibilità che alcune forme morbose che accompagnano il lungo stato di deficienza immunoreattiva possano esser dovute ad infezioni virali o batteriche o protozoarie concomitanti od opportunistiche, con danni anche neuromuscolari (demielinizzazioni periferiche), una vera miopatia dovuta al retrovirus non è stata propriamente dimostrata. Si è visto invece che sintomi e quadri patologici chiari possono intervenire in corso di AIDS per il tipo di tentativo terapeutico intrapreso: è stato documentato che l'uso prolungato di AZT (zidovudina) può causare (come abbiamo visto altri tossici fanno) lesioni mitocondriali con accumuli di questi organuli in calotte subsarcolemmali (*ragged-red fibers*) e con vacuolizzazioni e inclusioni paracristalline intramitocondriali (Dalakas *et al.*, 1990).

*Distrofie muscolari*

Passi molto importanti sono stati compiuti nella indagine genetica delle due principali distrofie muscolari ereditarie, quella più grave descritta da Duchenne (distrofia muscolare progressiva con esito letale nelle prime età della vita o nella giovinezza) e quella più blanda descritta successivamente da Becker: tuttavia, come è noto, le caratteristiche genetiche delle due forme sono assai simili, ambedue a trasmissione diaginica, cioè verificabili solo nei maschi emizigoti portatori del cromosoma X alterato.

Studiando la composizione di questo cromosoma si è scoperto che l'alterazione consiste in una delezione corrispondente al *locus* Xp 21, che è un *locus* gigantesco essendo costituito da circa 2,5 milioni di paia di basi facenti parte di quasi 70 esoni e codificante, attraverso un RNA messaggero di 14.000 basi, una proteina cui è stato dato il nome di *distrofina*, appunto perché mancante nei soggetti che vanno incontro alla distrofia muscolare (v. DISTROFIE E ATROFIE MUSCOLARI NEUROGENE E MIOGENE*).

È stato un caso molto esemplare quello di L. M. Kunkel e dei suoi collaboratori (1985-1989) questo di arrivare, attraverso il metodo detto della «genetica inversa», a individuare, nel ramo corto del cromosoma X il *locus* mancante e il suo correlato e principale prodotto, la distrofina, che si è poi potuta ottenere avendo clonato e sequenziato il voluminoso gene del *locus* Xp 21 (fig. 21).

È una proteina costituita da 3685 aminoacidi ed ha un p. m. di 427 kilodalton; viene prodotta essenzialmente dai m. volontari e dal miocardio, ma in qualche misura anche da altre cellule, per es. del sistema nervoso, ma in quantità minore.

Ha caratteristiche simili a quelle della *spettrina* (che fa parte del citoscheletro delle emazie); non è una proteina enzimatica e appare molto importante la sua collocabilità nelle complesse strutture delle fibre muscolari, che però è un'indagine difficile e ancora in corso, e che si compie mediante anticorpi specifici opportunamente marcati: non è un componente della membrana in quanto tale, ma pare associata alla sua faccia interna, citoplasmatica, e alla prima parte dei tubuli del sistema T. Si sono dimostrati accumuli di distrofina a livello delle giunzioni neuromuscolari e in quelle muscolotendinee. Si trova anche negli animali e in alcuni di essi sono state descritte alterazioni distrofiche per incapacità genetica a esprimere distrofina. Nell'ontogenesi muscolare e in colture di tessuto non è espressa allo stadio di mioblasti, ma solo al livello dei miotubi: evidentemente vi sono appositi geni regolatori.

Interessante è il problema della differenziazione delle due forme di distrofia per una stessa delezione genetica: esso sembra risolto nel senso che si ammette si determinino differenze nella fase di lettura delle sequenze con persistenza o meno di porzioni geniche interferenti; così, pur essendo quantitativamente maggiore la delezione nella forma benigna di Becker rispetto a quanto avviene nella forma Duchenne, in quest'ultimo caso si esprimerebbe però un prodotto anomalo che, come tale, verrebbe rapidamente degradato, mentre nella forma benigna di Becker si esprimerebbe una distrofina parziale, ma ancora capace di supplire in qualche precario modo alla integrabilità delle fibre. Oppure potrebbe qui trattarsi di un difetto quantitativo nella produzione di una distrofina normale, il danno allora passando al livello di geni regolatori.





Digitized by Google

Fig. 21. Schema delle possibili diverse modalità di determinismo fenotipico della distrofia muscolare realizzanti il tipo clinico classico Duchenne (grave) e quello secondario Becker (meno grave). Nella parte alta dello schema X rappresenta la coppia cromosomica (appunto, X) nel cui *locus* p21 (piccola porzione chiara in un braccio di un cromosoma) si trova la codificazione per l'espressione fenotipica della *distrofina*, proteina non esclusiva, ma particolarmente presente nei m. striati e condizionante la loro struttura-funzione.

Lo schema riproduce, molto ingrandita, l'estensione di tale *locus* (*barra vuota*, definita «gene DMP», costituito da circa $2{,}5 \cdot 10^6$ bp [paia di basi]). Da questo *locus* si determina un corrispondente mRNA (*barra tratteggiata*) e infine il prodotto finale della espressione nel fenotipo, la *distrofina* (*barra blu*), con circa $3{,}6 \cdot 10^3$ aminoacidi (aa).

La parte sottostante dello schema vuole indicare come si possano verificare due forme patologiche diverse per gravità [la forma clinica Duchenne (*parte sinistra* dello schema) e quella Becker (*parte destra*) della stessa distrofia]; a una delezione anche limitata del *locus* Xp 21 (*barra vuota*) corrisponde analoga alterazione del mRNA, la quale, esaminata in termini di sequenza di esoni (qui separati da linee verticali), significa perdita di un settore (segno ×) necessario all'utilizzazione dei successivi, onde interverrebbe un segnale di arresto e quindi si produrrebbe una distrofina gravemente mutilata e inefficiente. Invece, una delezione anche più cospicua del *locus* DMP, che si traduce in una obliterazione maggiore nella sequenza degli esoni mRNA (qui, per es., ben quattro), porterebbe tuttavia a una sequenza non inceppata, a una maggiore utilizzabilità degli aminoacidi e quindi alla sintesi di una distrofina solo parzialmente alterata. (*Da E. P. Hoffman e L. M. Kunkel, 1989, modificata e ridisegnata*).

Vi è stata molta attività nel settore della ricerca di un possibile intervento riparatore della terribile condizione del distrofico: essendo ora conosciuto il gene responsabile si pensa di poter intervenire nel futuro con una transfezione genica mediata da qualche tollerabile virus; inoltre, dato che si è già ottenuta *in vitro* la trasformazione di fibroblasti in mioblasti (o, meglio, si sono ottenuti fibroblasti che codificano ed esprimono proteine muscolari mediante transfezione dei geni differenziatori di cui si è parlato all'inizio), si è pensato di poter risolvere alcuni problemi del distrofico mediante impianto di siffatti mioblasti ottenibili a volontà. Ma questa proposta sembra di assai limitata applicazione, e in ogni caso occorre naturalmente tener presenti i risvolti immunologici.

V. anche: DISTROFIE E ATROFIE MUSCOLARI NEUROGENE E MIOGENE*.

*Cardiomiopatia ipertrofica*

È stata di recente descritta una sindrome ereditaria di cardiomiopatia ipertrofica (FHC: *Familial Hypertrophic Cardiomyopathy*) di cui ora si stanno studiando le caratteristiche genetiche e di biologia molecolare (Tanigawa *et al.*, 1990). Si tratta di una forma di estesa ipertrofia e iperplasia del miocardio senza giustificabile patogenesi e dovuta invece a una mutazione di un gene autosomale implicato nella espressione della catena pesante della miosina; il gene è dominante ed è situato nel *locus* q1 del cromosoma 14 ed è strettamente associato e funzionalmente legato al complesso genico che codifica le catene pesanti della miosina (per il m. scheletrico tale complesso si trova nel cromosoma 17). La risultante è un'alterazione profonda e qualitativa della struttura delle fibrocellule del miocardio ed è rapidamente incompatibile con la vita.

Recentemente mediante l'impiego della *polymerase chain reaction* (v. PCR*) sui linfociti, Rosenzweig *et al.* sono riusciti a realizzare la diagnosi preclinica della malattia.

[L'A. ringrazia i Proff. S. Schiaffino e G. Salviati per molte delle informazioni qui riportate].

**Bibliografia**

FISIOMORFOLOGIA DELLE STRUTTURE MUSCOLARI

Benezra R. *et al.*, *Cell*, 1990, **61**, 49.
Carafoli E., *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1977, **17**, 203-228.
Carafoli E., *Calmodulin in the Regulation of Calcium Fluxees in Cardiac Sarcolemma*, in Harris P., Pool-Wilson P. A. eds., *Advances in Miocardiology*, vol. 5, 1985, Plenum, New York.
Carafoli E., Penniston J. T., *Sci. Am.*, 1985, **253**, 70.
Izumo S., Mahdavi V., *Nature*, 1988, **334**, 539.
Margreth A. *et al.*, *J. Muscle Res. Cell Motility*, 1982, **3**, 213-230.
Rhodes S. J., Konieczny S. F., *Genes Dev.*, 1989, **3**, 2050-2061.
Salviati G., *J. Gen. Physiol.*, 1982, **79**, 603-632.
Sartore S. *et al.*, *Nature*, 1982, **228**, 294.
Schiaffino S. *et al.*, *Arch. Neurol.*, 1982, **39**, 347.
Squire J. M., Viber P. J. eds., *Fibrous protein structure*, 1987, Academic Press, New York: Knight P., Trinick J., *The Myosin Molecule*, pp. 247-281; Offer J., *Myosin Filaments*, pp. 307-356; Cohen C., Vibert P. J., *Actin Filaments: Images and models*, pp.





Digitized by Google

283-306; Bennett P. H., Elliot A., *Molluscan Paramyosin*, pp. 389-421; Squire J. M., Lufter P. K., Trinick J., *Muscle Myofibril Architecture*, pp. 423-450; Lowy J., Poulsen F. R., *Fast x-ray Diffraction Studies of muscle*, pp. 451-494.
Wright W. E. *et al.*, *Cell*, 1989, **56**, 607-617.

PATOLOGIA E PATOGENESI

Aloisi M., *Medicina-Riv. EMI*, 1990, **10**, 309.
Britt B. A. ed., *Malignant-Hyperthermia*, 1987, M. Nijhoff, Boston.
Bush H. F. *et al.* eds., *Mitochondria and Muscular Disease*, 1981, Mefar, Hoofdstraat.
Dalakas M. *et al.*, *N. Engl., J. Med.*, 1990, **322**, 1098-1105.
Di Mauro S. *et al.*, *J. Neurol. Sci.*, 1976, **27**, 217.
Di Mauro S. *et al.*, *Ann. Neurol.*, 1985, **17**, 521.
Di Mauro S. *et al.*, *J. Bioenerg. Biomembr.*, 1988, **20**, 353-364.
Di Mauro S. *et al.*, *Mitochondrial Disease*, 1989, Oxford Univ. Press, New York, pp. 285-298.
Di Mauro S. *et al.*, *Mitochondrial Encephalomyopathies*, in *Genetics of Neuromuscolar Disorder*, 1989, Alan R. Liss, New York, pp. 117-128.
Hoffman E. P., Kunkel L. M., *Neuron*, 1989, **2**, 1019-1029.
Kunkel L. M. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1985, **82**, 4778.
MacLennan D. H. *et al.*, *Nature*, 1990, **343**, 559.
Mickelson J. M. *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 1988, **263**, 9310.
Monaco A. P., Kunkel L. M. *et al.*, 1985, **316**, 842.
Mornes C. T. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1989, **320**, 1293.
Rosenzweig A. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1991, **325**, 1753.
Schiaffino S. *et al.*, *Labor. Invest*, 1982, **37**, 225.
Swash M., Schwartz M. S., *Neuromuscular Disease*, 1988, 2 ed., Springer, London, Berlin, New York.
Tanigawa G. *et al.*, 1990, **62**, 991-998; 999-1006.
Volpe P., Margreth A. *et al.*, *Neurology*, 1982, **32**, 37.
Walton J., *Disorders of Voluntary Muscle*, 1981, 4 ed., Churchill Livingstone, Edinburgh, London.
Wiley C. A., *Faseb J.*, 1989, **3**, 2503-2511.
Zeviani M. *et al.*, *Le malattie mitocondriali*, in Johnson W. G. ed., *Neurologic Clinics* (ediz. italiana), 1989, 1, McGraw-Hill Libri Italia, Milano, pp. 139-175.

MASSIMO ALOISI

## MUTAGENESI [v. vol. IX, col. 2290]

### Sorveglianza citogenetica umana

Nel 1960 Tough e collaboratori scoprirono che le radiazioni ionizzanti potevano indurre aberrazioni cromosomiche nei linfociti circolanti di pazienti sottoposti a terapia radiante. Successivamente vennero condotti centinaia di studi su gruppi di individui esposti professionalmente, terapeuticamente o accidentalmente ad agenti mutageni chimici o fisici. Le alterazioni cromosomiche possono persistere anche oltre 20-30 anni dall'esposizione, come dimostrato sui sopravvissuti ai bombardamenti atomici di Hiroshima e Nagasaki, e possono pertanto rappresentare una sentinella di avvenuta esposizione. Generalmente, per ogni soggetto, vengono analizzate circa 200 metafasi per lo studio delle aberrazioni cromosomiche e 50 metafasi per lo studio degli SCE (*Sister Chromatid Exchanges*: scambi tra cromatidi fratelli; v. MUTAGENESI, fig. 11, IX, 2306) in linfociti posti in coltura e stimolati alla replicazione.

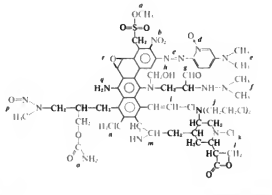
La sensibilità di tali test è tale da permettere di discriminare gruppi di individui anche non professionalmente esposti come i fumatori, oppure caratterizzati da stili o ambienti di vita diversi (dieta, livello di industrializzazione, etc., come nel caso degli avventisti del 7° giorno; tab. I).

Gli avventisti del 7° giorno rappresentano una setta religiosa relativamente numerosa negli U.S.A., specialmente in California. Questi soggetti non fumano, non bevono alcolici, sono fortemente vegetariani e sono omogeneamente distribuiti nei vari strati sociali. Vivendo nel medesimo contesto ambientale del resto della popolazione, possono rappresentare un interessante gruppo di popolazione su cui studiare gli effetti della dieta e del fumo. Studi epidemiologici hanno mostrato un ridotto tasso di vari tipi di tumori in questo particolare sottogruppo. La differenza fortemente significativa in frequenza di SCE nei linfociti, dimostra che questo test è in grado di rilevare effetti citogenetici dovuti al diverso stile di vita (Wulf *et al.*, 1986).

Lo Studio Prospettico Inter-Nordico (Danimarca, Norvegia, Svezia, Finlandia), iniziato nel 1975 su alcune migliaia di soggetti, ha permesso di correlare una maggior frequenza di aberrazioni cromosomiche ad un maggior rischio di sviluppo di patologie neoplastiche. Queste correlazioni non solo sono rafforzate dalle costanti osservazioni sui ca-

TAB. I. FREQUENZA DEGLI SCE NEGLI AVVENTISTI DEL 7° GIORNO E CONTROLLI

| | SCE/cellula |
|---|---|
| Avventisti (44) | $5,54 \pm 0,07$ $p < 0,00001$ |
| Controlli (44), non fumatori | $8,00 \pm 0,15$ |

Fig. 1. Principali unità strutturali (*in rosso*) che caratterizzano sostanze chimiche classificate come positive per il rapporto struttura-attività. I gruppi sono i seguenti: *a*) esteri alchilici dei loro acidi fosfonico e solfonico; *b*) gruppi nitro-aromatici; *c*) gruppi azo-aromatici non come tali, ma in virtù della loro possibile riduzione ad un'ammina aromatica; *d*) N-ossidi su anelli aromatici; *e*) gruppi mono- e dialchil-ammino aromatici; *f*) alchil-idrazine; *g*) alchil-aldeidi; *h*) derivati N-metiloli; *i*) monoalo-alcheni; *j*) una vasta famiglia di mostarde (beta-aloetiliche) dell'azoto e del solfo; *k*) N-cloroammine; *l*) propiolattoni e propiosultoni; *m*) derivati aziridinilici aromatici e alifatici; *n*) alchil-alidi primari sostituiti sia aromatici che alifatici; *o*) derivati dell'uretano (carbammati); *p*) alchil N-nitrosammine; *q*) ammine aromatiche, loro derivati N-idrossilici ed esteri; *r*) epossidi alifatici e aromatici. La sottostruttura (*k*), N-cloroammina, non è stata ancora associata alla cancerogenicità, ma è risultata potentemente genotossica.

riotipi aberranti e caratterizzanti le cellule tumorali, ma anche dalle più recenti osservazioni circa l'implicazione di particolari lesioni cromosomiche in certi tipi di neoplasie umane.

**Mutagenesi e cancerogenesi: relazione struttura-attività**

Notevoli sono oggi le conoscenze sui gruppi funzionali delle molecole, che conferiscono loro la capacità di indurre mutazioni o tumori negli animali da esperimento. Complessi programmi informatici permettono di frammentare una molecola mutagena in tutte le parti possibili e di ricercare correlazioni tra queste e gli effetti mutagenetici e cancerogenetici sperimentalmente riscontrati.

In tal modo sono stati individuati molti gruppi funzionali «a rischio» e le relative posizioni su definite parti delle molecole che vengono schematicamente riportati in fig. 1. Queste utilissime informazioni, in corso di continuo sviluppo e perfezionamento, servono non solo ad individuare i potenziali agenti mutageni e cancerogeni già presenti nell'ambiente e quindi a meglio indirizzare la ricerca sperimentale, ma anche ad impedire che ne vengano prodotti in futuro, tenendo presenti le strutture a rischio, per es., in fase di progettazione di un farmaco o di definizione di un processo di sintesi chimica.

Nella fig. 1 vengono riportati in colore i gruppi funzionali che sono dotati di accertata attività mutagena e cancerogena quando presenti su molecole o parti di molecole. Questo modello è in continuo ampliamento mano mano che si perfezionano i programmi di analisi e si arricchiscono le banche dati sui risultati sperimentali.

**Bibliografia**

Ashby J., Tennant R. W., *Mutation Res.*, 1988, **204**, 17-115.
Tough I., Bukton K. E., Baikie A. G., Court-Brown W. M., *Lancet*, 1960, **II**, 851.
Wulf H. C., Iversen A. S., Husum B., Niebur E., *Mutation Res.*, 1986, **162**, 131.

ROBERTO BARALE



Digitized by Google

# N

**NAIL-PATELLA SINDROME**: V. SANGUIGNI GRUPPI (vol. XIII, col. 2014).

## NALOSSONE E NALTRESSONE

F. *naloxone; naltrexone.* - I. *naloxone; naltrexone.* - T. *Naloxon; Naltrexon.* - S. *naloxona; naltrexona.*

SOMMARIO



### Generalità e costituzione chimica

È noto fin dal 1914 che la introduzione di un radicale allile nella molecola di un oppioide agonista conferisce alla nuova molecola azioni antagoniste verso gli stessi recettori. Il *nalossone* (Narcan®) è l'allil-derivato dell'ossimorfone, sintetizzato da Lewenstein e Fischman nel 1960, tramite la sostituzione sull'atomo di azoto del gruppo metilico con un gruppo allilico. Nel 1961 Blumberg *et al.* descrivono il nalossone come un antagonista dei narcotici oppiacei, dieci volte più attivo nell'animale da esperimento della N-allilmorfina (o nalorfina; V. NALORFINA E ANALOGHI).

Anche il *naltressone* (Antaxone®; Nalorex®), sintetizzato da Blumberg *et al.* nel 1965 è un antagonista puro degli oppiacei. La struttura del naltressone si distingue da quella dell'ossimorfone in quanto il gruppo metilico sull'atomo di azoto è sostituito da un gruppo ciclopropilmetilico.

### Farmacologia

Il nalossone è un antagonista degli oppiacei naturali e sintetici relativamente puro, agendo con un meccanismo di tipo competitivo a livello soprattutto dei recettori $\mu$, ma anche di quelli k e $\delta$; previene quindi, o rimuove, gli effetti della morfina e dei suoi congeneri; non possiede proprietà agonistiche o morfino-simili, caratteristiche di altre molecole antagoniste degli oppiacei; pertanto non possiede apprezzabile attività analgesica, né determina effetti psicotomimetici, depressione respiratoria o miosi. In soggetti che non abbiano assunto sostanze morfino-simili, il nalossone non manifesta alcun effetto farmacologico, mentre è altamente efficace nell'antagonizzare la depressione respiratoria da oppioidi.

Il nalossone è ben assorbito dopo somministrazione orale, ma la sua inattivazione a livello epatico (glicurono-coniugazione) è, per tale via, troppo rapida per cui viene preferita la via parenterale; dopo somministrazione e.v. la risposta terapeutica è pressoché immediata; la durata della azione varia da 1 a 3 h; l'emivita ($T_{1/2}$) plasmatica è di circa 1 h.

Il naltressone in ogni specie animale e nell'uomo è prontamente assorbito per via orale e sottoposto ad un esteso metabolismo di primo passaggio: infatti il 95% del farmaco viene convertito in svariati metaboliti. Il metabolita principale è il 6-β-naltressolo (fig. 1) che ha lo stesso meccanismo d'azione del naltressone, contribuendo quindi al blocco farmacologico dei recettori oppiacei. Il 2-idrossi-3-metossi-6-β-naltressolo è un metabolita secondario. Sia il naltressone che i suoi metaboliti sono escreti essenzialmente dal rene, mentre l'escrezione fecale resta una via di eliminazione minore. Il tempo necessario per raggiungere il picco plasmatico è di 1 h sia per il naltressone che per il 6-β-naltressolo. I valori medi di emivita ($T_{1/2}$) per il naltressone e per il 6-β-naltressolo sono di 3,9 e di 12,9 h rispettivamente; il metabolita è dotato cioè di un più lungo tempo di ritenzione rispetto al composto progenitore e conseguentemente ha una più lunga durata d'azione. Il naltressone non si accumula in caso di terapie a lungo termine, mentre i livelli plasmatici del 6-β-naltressolo, considerando la durata della sua emivita, aumentano del 40% durante la somministrazione cronica.

L'azione fondamentale del naltressone è rappresentata dal blocco competitivo dei recettori degli oppioidi. Infatti attenua o blocca completamente in maniera reversibile gli effetti degli oppiacei somministrati per via e. v.; esso, come il nalossone, non possiede azioni intrinseche. Provoca tuttavia una certa costrizione pupillare, attraverso un meccanismo che resta da chiarire. La sua potenza antagonista è molte volte superiore a quella del nalossone. Nell'animale da esperimento è stata osservata anche un'alterazione della



Digitized by Google

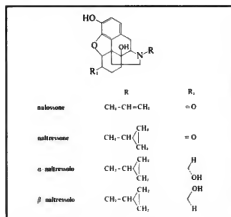



Fig. 1. Formule di struttura del nalossone e del naltressone (con i relativi metaboliti).

regolazione neuroendocrina e del comportamento (assunzione di cibo ed acqua, attività sessuale).

Nei soggetti fisicamente dipendenti dagli oppiacei la somministrazione di nalossone e di naltressone induce la sindrome di astinenza. Gli studi clinici indicano che 1 mg di nalossone e 100 mg di naltressone possono bloccare gli effetti farmacologici di 25 mg di eroina.

**Indicazioni terapeutiche**

Il nalossone è indicato nell'*avvelenamento acuto da oppioidi*, ed anche per ridurre la gravità della depressione respiratoria nei bambini nati da madri tossicodipendenti. Nell'avvelenamento acuto da oppioidi la dose abituale è di 0,4-0,8 mg. La sua azione ha una durata più breve di quella degli oppiacei e può essere pertanto necessario ripetere più volte la somministrazione. Per ridurre la gravità della depressione respiratoria dei bambini nati da madre tossicodipendente, il farmaco viene iniettato direttamente al neonato attraverso la vena ombelicale (10 μg/kg, ripetibile), oppure alla madre (0,4-0,8 mg) subito prima del parto.

Fondato sulle stesse leggi dell'antagonismo competitivo è l'uso del nalossone come mezzo diagnostico nella tossicomania da oppioidi (*Narcan test*: 0,4-0,8 mg e. v.); infatti il nalossone può spostare stechiometricamente l'eroina dai recettori per i narcotici, evocando una sindrome d'astinenza tanto più intensa quanto maggiore è l'occupazione dei recettori e quindi la dose giornaliera di eroina. Nell'applicazione anestesiologica il nalossone reverte prontamente la depressione respiratoria da droperidolo e fentanile (neuroleptoanalgesia).

Il naltressone viene usato nella prevenzione e nella farmacoterapia della tossicodipendenza da eroina; infatti, la occupazione dei recettori con un antagonista annulla l'effetto dell'eroina privandola della gratificazione che fa parte delle motivazioni dell'abuso, e pertanto viene impiegato come chemioterapia a lungo termine nella tossicodipendenza da eroina allo scopo di prevenire la recidiva in individui *drug-free*.

Quando si inizia una terapia con naltressone, il farmaco deve essere necessariamente somministrato a pazienti che non abbiano ancora sviluppato la dipendenza fisica, o a pazienti che l'abbiano perduta attraverso la detossificazione. Una volta accertata l'assenza della dipendenza fisica mediante Narcan-test (tale somministrazione scatena negli individui dipendenti da oppioidi una sindrome da astinenza), si inizia la terapia con naltressone con dosi gradualmente crescenti: il primo giorno vengono somministrati 10 mg di farmaco, successivamente la posologia giornaliera viene aumentata di 10 mg fino ad arrivare alla dose di 50 mg. Successivamente, il mantenimento con naltressone prevede schemi diversi purché sia raggiunta la dose globale di 350 mg/settimana.

Esistono perlomeno tre modalità di somministrazione: 1) 50 mg/*die*; 2) 100 mg al lunedì e mercoledì, 150 mg al venerdì; 3) 150 mg al lunedì e 200 mg al giovedì. In questo modo i pazienti che si sottopongono a tale terapia a lungo termine con naltressone hanno i recettori degli oppioidi bloccati; pertanto un'eventuale autosomministrazione di eroina non sarà seguita da alcun effetto gratificante.

**Effetti collaterali e tossicità**

Con dosi di nalossone fino a 12-24 mg non sono stati segnalati effetti collaterali importanti, eccettuata una lieve sonnolenza; solo in alcuni soggetti si è osservato irrequietezza, ipertensione (dovute forse ad una liberazione di catecolamine) oppure nausea e vomito.

Il farmaco non determina alcuna dipendenza o assuefazione di tipo fisico e psicologico.

Il trattamento cronico con naltressone alla dose terapeutica raccomandata è generalmente incapace di produrre effetti collaterali importanti. Le reazioni negative più frequenti riferite sia all'inizio della terapia sia durante il periodo di somministrazione sono: 1) cefalea; 2) anoressia; 3) perdita di peso; 4) astenia; 5) insonnia; 6) modificazione dei ritmi mestruali nella donna. Dosi elevate di naltressone, da una a due volte superiori a quelle raccomandate per il blocco dei recettori oppiacei, possono provocare alterazioni epatocellulari. A causa di questa potenziale epatotossicità il naltressone è controindicato nei paziente affetti da epatopatie acute o da insufficienza epatica, ma anche nei pazienti con epatopatia di minor gravità o la cui anamnesi presenti episodi recenti di epatite, la opportunità della sua somministrazione deve essere considerata con cautela. L'effetto anoressizzante del farmaco documentato nell'animale da esperimento e nell'uomo è stato utilizzato per una terapia a lungo termine nel trattamento della obesità. Tuttavia i risultati degli studi chimici condotti non sono stati significativi.

**Bibliografia**

Bhargava H. N., *Eur. J. Pharmac.*, 1978, **50**, 193.
Blumberg H., Dayton H. B., Wolf P. S., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1967, **10**, 406.
Braude M. C., Morrison J. M., *Preclinical Toxicity Study of Naltrexone*, in Julius & Renault, NIDA Research Monography, 1976, **9**, 16.
Johnston R. E. *et al.*, *Anestesiology*, 1974, **41**, 361.
Julius D., Renault P., *Narcotic Antagonist: Naltrexone. Progress Report*, NIDA Research Monography, 1976, 9.
Martin W. R., Jasinki D. R., Mansky P. A., *Arch. Gen. Psychiatr.*, 1973, **28**, 784.
Martin W. R., *Ann. Intern. Med.*, 1974, **85**, 765.
Sternbach H. A., Annitto W., Pottash A. L. C., Gold M. S., *Lancet*, 1982, **1**, 388.
Vizi E. S., Foldes F. F., Rich J. & Knoll J., *Pharmacology*, 1976, **14**, 76-85.
Way E. L., Settle A. A., *Ration Drug Ther.*, 1975, **9**, 1.

EMANUELA MASINI E CECILIA DEL RE

**NALTRESSONE**: V. NALOSSONE E NALTRESSONE*.

## NANOFIETIASI

t. *nanophyetiasis.*

SOMMARIO



### Generalità

La nanofietiasi è un'elmintiasi intestinale provocata da due sottospecie del trematode digeneo *Nanophyetus salmincola* (sin.: *Troglotrema salmincola*; Fam.: *Troglotrematidae*). Si manifesta in oltre trenta specie di mammiferi, tra domestici (cani, gatti, etc.) e selvatici (volpi, coyote, linci, orsi, mustelidi, etc.), in alcune specie di uccelli e talora anche nell'uomo, in seguito all'ingestione di pesci (Fam.: *Salmonidae* e *Thymallidae*) crudi o malcotti, contenenti nei vari tessuti le metacercarie incistate del parassita.

Delle due sottospecie, *Nanophyetus salmincola salmincola* risulta diffusa lungo la costa Pacifica in vaste aree fluviali del Canada e dell'America del Nord (Stati di Washington, Oregon e California), mentre *N. s. schikhobalowi* si riscontra in habitat analoghi nella Siberia orientale; in queste zone si riproducono, infatti, i primi ospiti intermedi dei parassiti, rappresentati rispettivamente da lumache pleuroceridi dei generi *Oxytrema* (*O. silicula*, sin.: *Juga plicifera*, *Goniobasis plicifera*) e *Semisulcospira* (*S. laevigata* e *S. cancellata*).

La sottospecie americana è stata riscontrata nell'uomo solo in una ventina di casi e in tempi assai recenti (è probabile che nel passato diversi casi non siano stati mai diagnosticati), mentre quella siberiana, nota già da diversi decenni, risulta largamente diffusa nei villaggi delle aree endemiche con il coinvolgimento anche del 100% della popolazione (la prevalenza varia normalmente dal 20 al 70%).

#### Morfologia e ciclo vitale

Le due sottospecie di *N. salmincola* non presentano differenze morfostrutturali di rilievo: i vermi adulti, di piccole dimensioni (0,8-2,5 × 0,3-0,5 mm), sono caratterizzati da un corpo piriforme dotato di una ventosa orale leggermente più larga (0,15-0,18 mm) di quella ventrale, posta in posizione mediana; presentano due testicoli ovoidali situati nel terzo posteriore del corpo, vitellogeni posti lateralmente e un corto utero contenente da 5 a 16 uova; queste, di colore giallo chiaro, hanno forma ovoidale e dimensioni relativamente cospicue (65-95 × 35-55 μm nella sottospecie americana e 50-80 × 30-55 μm in quella siberiana); presentano un opercolo e dalla parte opposta un appiattimento polare (fig. 1); immature quando eliminate, presentano un miracidio che si sviluppa solo in ambiente esterno.

Fig. 1. Uovo embrionato di *N. salmincola salmincola* (320 ×). (*Osservazione S. E. Knapp, in Millemann R. E. e Knapp S. E., Advances in Parasitology, 1970, 8, 1-41*).

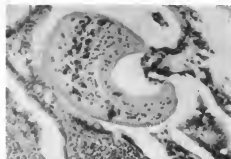



Fig. 2. Sezione istologica di duodeno di cane che mostra il trematode adulto (250 ×). (*Osservazione S. E. Knapp, 1970*).

Il ciclo di vita è del tutto simile a quello di altri trematodi intestinali come *Heterophyes heterophyes* e *Metagonimus yokogawai*: prevede infatti la penetrazione dei miracidi nei tessuti di lumache idonee (I ospite intermedio) e il loro successivo sviluppo in redie; la produzione in queste di xiphidiocercarie microcerche, in grado, una volta libere nell'ambiente, di penetrare attraverso i tegumenti di trote e salmoni o di altri ospiti intermedi di II stadio (ne esistono più di 30 specie) per poi trasformarsi in metacercarie nei loro muscoli o in altri organi (soprattutto reni e pinne); ed infine lo sviluppo delle forme adulte nell'intestino tenue degli ospiti definitivi dopo l'ingestione di pesci parassitati (fig. 2).

### Quadro clinico

I vermi adulti si localizzano prevalentemente nel duodeno e nel primo tratto del digiuno, ove possono vivere per diversi mesi in stretto contatto con la mucosa intestinale, talvolta completamente immersi in essa, senza peraltro causare gravi o estese lesioni tessutali.

Analogamente a quanto avviene in molte elmintiasi intestinali, il quadro clinico è strettamente correlato al numero dei parassiti presenti: blande infestazioni risultano del tutto asintomatiche, mentre cariche parassitarie elevate (con più di 500 vermi) divengono causa di turbe gastrointestinali anche gravi. Si possono manifestare dolori addominali talora intensi, associati a vomito e nausea, unitamente ad incremento della peristalsi intestinale con fenomeni di diarrea acuta o cronica e meteorismo; si può avere anche anoressia e di conseguenza perdita di peso e indebolimento generale. Assai frequente è l'eosinofilia nel sangue periferico che può anche superare i valori del 40%. Sembra infine che la presenza di molti parassiti interferisca sul grado di acidità dello stomaco, determinandone alternativamente l'incremento o il decremento, causando modifiche strutturali della mucosa ed eventualmente gastrite.

### Diagnosi, terapia e prevenzione

La n. va sospettata in quei soggetti affetti da turbe intestinali e da eosinofilia che abbiano soggiornato in aree endemiche, nutrendosi di trote, salmoni o altri pesci crudi, affumicati o malcotti. In questi casi l'accertamento va condotto ricercando le tipiche uova del parassita, presenti nelle feci dei soggetti colpiti già 5-6 giorni dopo l'infestazione, utilizzando eventualmente anche opportuni sistemi di arricchimento, in considerazione del limitato numero di uova prodotto quotidianamente dai vermi adulti. Anche in relazione a questo, si può supporre che la diffusione della n. lungo le coste del Pacifico sia tuttora sottostimata.





Digitized by Google

Il trattamento si avvale dell'uso del praziquantel, farmaco d'elezione, con somministrazione di 3 distinte dosi di 20 mg/kg nell'arco di una giornata. In alternativa, data l'efficacia dei farmaci, è possibile l'utilizzo sia del bithionolo in 2 dosi di 50 mg/kg, sia della niclosamide in 3 dosi di 2 g, entrambi somministrati oralmente a giorni alterni.

La prevenzione ovviamente consiste nell'adeguata cottura di quei pesci che consentono lo sviluppo delle metacercarie del parassita, tenendo eventualmente presente che tali forme infestanti sono rese inattive dal congelamento a −20 °C per 24 h.

È opportuno infine ricordare che *N. s. salmincola* (e non la sottospecie siberiana) può essere vettore di *Neorickettsia helminthoeca*, che nei canidi causa enteriti assai gravi e talora letali, senza peraltro manifestare il suo effetto patogeno nell'uomo.

**Bibliografia**

Eastburn R. L., Fritsche T. R., Terhune jr. C. A., *Am. J. Med. Hyg.*, 1987, **36**, 586.
Fritsche T. R., Eastburn R. L., Wiggins L. H., Terhune jr. C. A., *J. Infect. Dis.*, 1989, **160**, 896.
Harrell L. W., Deardorff T. L., *J. Infect. Dis.*, 1990, **161**, 146.
Millemann R. E., Knapp S. E., *Adv. Parasitol.*, 1970, **8**, 1.

GIANFRANCO BORTOLETTI

**NEDOCROMIL SODICO**: v. ASMA BRONCHIALE* (col. 878).

## NEFROBLASTOMA

*Sin.*: tumore di Wilms. - F. *nefroblastome*. - I. *nephroblastoma*. - T. *Nefroblastom*. - S. *nefroblastoma*.

SOMMARIO



### Introduzione

Nel 1899 il chirurgo tedesco Max Wilms descriveva 7 casi di un bizzarro tumore renale pediatrico, già segnalato da altri AA. nel lontano 1814. Da allora, il vecchio *sarcoma embrionale*, o *adenomiosarcoma*, viene universalmente indicato come *tumore di Wilms*, termine in uso per definire uno dei vari tipi di neoplasia renale nel bambino: il *nefroblastoma*. Il n. (o tumore di Wilms [TW]) è un tumore solido embrionario, le cui strutture riassumono alcune tappe dello sviluppo intrauterino dell'organo originario.

Il lato sinistro del corpo è leggermente più colpito del destro e la bilateralità si osserva nel 5-10% circa dei soggetti.

Un problema differente è costituito dal n. extrarenale, di cui solo 24 casi sono stati riportati in letteratura, segnalati in genere nel retroperitoneo e nella regione inguinoscrotale.

I n. sono stati suddivisi in due categorie: nella prima sono compresi i n. che seguono come linea di accrescimento quella che unisce la loggia renale alla regione dei genitali esterni e che probabilmente originano da residui embrionali di tessuto renale. Una seconda categoria comprende i teratomi contenenti tessuto nefroblastico; nella maggior parte dei casi si tratta di neoplasie tipiche dei primi 4 anni di età, con decorso favorevole senza alcuna occorrenza di recidive o di metastasi: la loro prognosi è quindi migliore rispetto ai n. a sede renale classica.

Per quanto riguarda la familiarità, più fratelli possono essere colpiti e talora il n. può comparire nelle generazioni successive.

Nel 15% circa dei casi i bambini affetti da n. presentano anche delle malformazioni congenite associate. Tra quelle più descritte l'*aniridia*, di tipo sporadico e non ereditario (*sindrome di Miller*) compare con una frequenza pari a 1:75 casi di n.; tuttavia, oltre il 30% dei bambini con aniridia hanno un n. L'aniridia si accompagna in alcuni casi a malformazioni delle cartilagini auricolari, a cataratta congenita, a microcefalia con ritardo psicomotorio e ad ipotonia muscolare. I bambini affetti dal complesso aniridia-n. hanno una più elevata incidenza di bilateralità. In questi pazienti è stata citogeneticamente dimostrata una delezione del braccio corto del cromosoma 11.

L'emipertrofia compare con una frequenza del 3%; può comprendere un intero emisoma o solo alcuni organi come la lingua, un arto, la faccia; non necessariamente il lato colpito da ipertrofia è anche sede del tumore. La *sindrome di Beckwith-Wiedemann* (e altre sindromi da gigantismo fetale) ed alcune malformazioni dell'apparato genitourinario, quali il rene a ferro di cavallo, il criptorchidismo (4,4%), le disgenesie gonadiche (*sindrome di Drash*) e alcune forme di sindrome nefrosica, di glomerulonefrite e di sclerosi glomerulare, sono anch'esse poco comuni; rara ma descritta è l'associazione con lo pseudoermafroditismo.

Tra le associazioni politumorali descritte vi sono quelle con l'epatoblastoma e con le neoplasie della corticale surrenalica; inoltre vi è una maggiore frequenza di n. nei soggetti affetti da malattia di von Recklinghausen: l'incidenza del n. in questi pazienti è 30 volte superiore a quella attesa.

### Epidemiologia

Attualmente, dopo i tumori del S.N.C., i linfomi maligni e il neuroblastoma, il n. è il quarto più frequente tumore solido nel bambino, ma senz'altro è la più comune neoplasia addominale pediatrica. Comprende oltre il 5% di tutte le neoplasie e il 90% di quelle esclusivamente renali. Compare all'incirca con 5-8 casi per 1.000.000 di bambini di età inferiore ai 15 anni, pari a circa 450-500 nuovi casi annuali negli U.S.A.

Nel 75% dei casi colpisce bambini di età non superiore ai 5 anni. Raramente diagnosticato nel neonato e nel lattante, questo tumore ha un picco d'incidenza nel periodo compreso tra i 2 e i 4 anni; tuttavia sono descritti n. nell'adolescente ed anche nell'età adulta.

Attualmente, l'80% dei neonati con un tumore renale ha un nefroma mesoblastico e meno del 10% presenta un TW. Raramente i TW neonatali presentano *foci* di anaplasia e quasi sempre appartengono allo stadio I/II secondo la classificazione del NWTS (National Wilms Tumor Study Group; v. sotto). Probabilmente per questo motivo la loro prognosi appare più favorevole rispetto a quella dei bambini di età compresa tra 3 e 5 anni.

Il TW non è correlato a fattori razziali, climatici od ambientali. Non ha prevalenza per un sesso, anche se i maschi sono moderatamente più colpiti.

### Anatomia e istologia patologica

Il blastema metanefrico è il progenitore sia del n. che delle sue varianti istopatologiche. La storia biologica di questo tumore probabilmente evolve attraverso uno stadio preliminare di amartomi, che in seguito confluiscono in isolotti cellulari (*tumorlets*) di blastema che in una fase finale si addensano per formare il TW.

Attualmente si riconoscono cinque differenti varianti raccolte nella famiglia delle neoplasie metanefriche (tab. I):



Digitized by Google

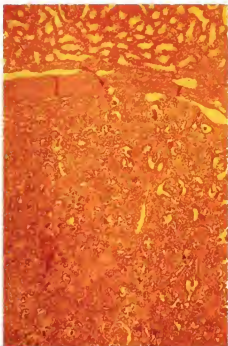



Fig. 1. Quadro istologico di n. con sezione al limite fra il parenchima normale (*in alto*) e la neoformazione (*in basso*). Nell'area patologica sono visibili glomeruli e strutture tubulari profondamente alterati.

**TAB. I. CLASSIFICAZIONE ANATOMOPATOLOGICA DEL TUMORE DI WILMS E DEI TUMORI DELLA CRESTA METANEFRICA**
(Da L. Dehner, *Pediatric Surgical Pathology*, 1987, 2 ed., Williams & Wilkins, Baltimore)

**1. Tumore di Wilms**
- Tumore di Wilms classico
- Sarcoma a cellule chiare
- Tumore rabdoide
- Nefroblastoma fetale rabdomiomatoso

**2. Complesso blastema nodulare renale-nefroblastematosi (BRN-N)**
**3. Nefroma mesoblastico**
**4. Nefroma cistico**
**5. Rabdomiosarcoma**

il complesso *blastema renale nodulare-nefroblastematosi*, vero e proprio *trait d'union* tra una patologia malformativa ed una tumorale; il *nefroma mesoblastico*, o amartoma renale fetale; il *nefroma cistico* o TW policistico, o n. cistico benigno; il *rabdomiosarcoma*, da taluni non distinto dalla variante sarcomatosa a cellule chiare del TW e, infine, il *tumore di Wilms* o *n.* propriamente detto.

*Tumore di Wilms o nefroblastoma*

I n. appaiono come masse voluminose, che possono raggiungere e superare i 1000 g di peso ed i 20 cm di diametro trasverso massimale; solo il 5% di questi tumori appare multinodulare o multifocale ed a localizzazione corticale.

Il TW origina nel parenchima renale, che può apparire anche completamente sostituito dal suo accrescimento; in altri casi il TW si accresce in modo esofitico, lasciando integro il tessuto residuo, da cui è separato tramite una pseudocapsula fibrosa. Nel contesto del tumore, che in superficie di sezione ha un aspetto variegato, si apprezzano aree di emorragia e di necrosi. Zaffi neoplastici talora si accrescono nel lume dell'uretere e/o della vena cava inferiore (6-10%), previa trombosi venosa renale, e possono rag-

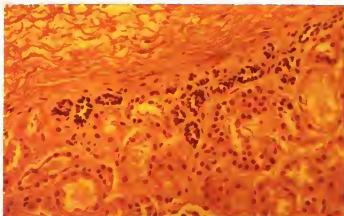



Fig. 2. Sezione corticale renale con presenza di un'area di nefroblastematosi in sede tipicamente subcapsulare (ipercromatica).





Digitized by Google

giungere il cuore destro (3%, talora anche solo per embolizzazione). Molto rare sono l'invasione e l'infiltrazione diretta della pelvi. Solo nel 15% dei casi si assiste a una colonizzazione dei linfonodi dell'ilo renale.

Microscopicamente, il n. è un tumore embrionario che tende a riprodurre le strutture del metanefro dell'embrione ed è costituito pertanto da 3 elementi: una componente cellulare blastematosa (piccole cellule indifferenziate); una componente epiteliale ben differenziata che si organizza in strutture abortive tubulari, pseudoglomerulari e cistiche e una quota di tessuto connettivale, fibroblastico, contenente talora isolotti di muscolatura liscia e/o striata, frammenti di cartilagine e di osso. Accanto a strutture così differenziate, si riscontrano talora elementi anaplastici altamente indifferenziati (figg. 1 e 2).

Ai fini della prognosi sono assai importanti la presenza e la diffusione di questi aspetti di anaplasia (definita come ipercromasia e gigantismo dei nuclei, il cui diametro è triplo rispetto a quello di elementi adiacenti non anaplastici). Una prognosi sfavorevole è inoltre propria di quei tumori che dimostrano abbondanti figure mitotiche, con lacerazione ed invasione extracapsulare, con aspetti sarcomatosi e con alterazioni del DNA; un'istologia sfavorevole si incontra nell'11% dei casi.

Le metastasi ematogene prediligono i polmoni (80%) e, più di rado, il fegato e l'apparato scheletrico. Rare sono le metastasi cerebrali ed eccezionali quelle della colonna vertebrale, del mediastino, midollari ed uretero-vescicali.

La presenza di *foci* anaplastici e sarcomatosi (istopatologia non favorevole), i linfonodi regionali positivi, l'età superiore ai 2 anni e le metastasi a distanza sono indice di una prognosi peggiore; elementi favorevoli sono invece i segni istologici di un'elevata differenziazione tessutale. La prognosi ed il *follow-up* a distanza sono grandemente influenzati dallo stadio della malattia, stabilito sia dall'*équipe* chirurgica intraoperatoriamente che dal patologo durante gli esami istologici. La stadiazione del TW comprende cinque categorie (tab. II).

Un'altra classificazione adottata è quella proposta dalla IUAC (International Union Against Cancer) come TNM (dalle iniziali *Tumor*, *Nodes* e *Metastases*) (tab. III).

Due varianti «sarcomatose» del TW sono state identificate: quella a *cellule chiare* (SCC) e quella *rabdoide*. Attualmente, quest'ultima non viene più inserita nel protocollo SIOP (Società Internazionale di Oncologia Pediatrica).

Il sarcoma a cellule chiare comprende il 2,5% di tutti i tumori renali pediatrici. Ha una netta prevalenza per il sesso maschile e compare spesso durante il primo anno di vita. Ha la particolare tendenza a metastatizzare le ossa (40-60% contro circa il 3% del TW classico) e tra di esse soprattutto le vertebre, le ossa del cingolo pelvico e le coste: per questo motivo era stato denominato *bone metastasizing Wilms' tumor*. Tende a recidivare in oltre il 60% dei casi ed ha una prognosi infausta nella metà dei bambini affetti.

*Complesso blastema renale nodulare-nefroblastematosi*

Tra gli altri tumori della cresta metanefrica, il complesso blastema renale nodulare-nefroblastematosi (BRN-N) è costituito da uno o più noduli microscopici subcapsulari, corticali, di tessuto metanefrico immaturo, persistenti oltre le 36 settimane di vita intrauterina. Non possiede né potenzialità invasiva né metastatica, ma tuttavia, considerando l'elevata incidenza con cui compare associato a TW (30-40%, contro l'1% dei reni normali) è considerato da taluni AA. come lesione precancerosa o n. *in situ*. L'incidenza del BRN-N è più elevata nei primi tre mesi di vita e nella metà dei casi la sua localizzazione è bilaterale. Tra le malformazioni congenite associate sono descritte la trisomia 18 e 13.

Si riconoscono due gruppi differenti di nefroblastematosi: multifocale e diffuso. Il primo gruppo comprende tre varietà: il blastema nodulare, rappresentato da isolotti di cellule nefroblastiche; l'amartoma metanefrico ed i cosiddetti *Wilms' tumorlets*. Questi ultimi comprendono gruppi isolati di cellule neoplastiche di diametro non superiore ai 3,5 cm. Il secondo gruppo comprende due varietà: la pancorticale, incompatibile con la vita, e la superficiale, che può circondare il rene come un guscio.

Microscopicamente, nei casi di BRN-N l'attività mitotica non appare mai intensa e rare sono le aree di emorragia e di necrosi. La sua storia biologica è del tutto incerta e può comprendere un'involuzione cicatriziale, una maturazione fibromatosa od amartomatosa, una degenerazione malformativa di tipo disgenetico (displasia nefronale) oppure una degenerazione neoplastica in TW.

**TAB. II. STADIAZIONE DEL NATIONAL WILMS TUMOR STUDY (NWTS)**
(da G. J. D'Angio, J. B. Beckwith, N. E. Breslow *et al.*, *Cancer*, 1989, **64**, 349)

| Stadio | Caratteristiche tumorali corrispondenti |
|---|---|
| I | **Tumore limitato al rene e completamente asportato**<br>La superficie della capsula è intatta ed il tumore non si è rotto prima o durante l'exeresi. Sui margini dell'incisione chirurgica non si apprezzano residui neoplastici apparenti. |
| II | **Tumore esteso oltre il rene ma completamente asportato**<br>Estensione locale del tumore con penetrazione, attraverso la pseudocapsula, nei tessuti perirenali. I vasi renali extraparenchimali sono infiltrati o contengono trombi neoplastici. Il tumore può essere stato biopsiato oppure è presente uno stravaso tumorale locale o localizzato al fianco. Sui margini della incisione chirurgica non si apprezzano residui tumorali apparenti. |
| III | **Tumore residuo, non-ematogeno, confinato all'addome**<br>Una o più delle presenti evenienze possono presentarsi:<br>a) linfonodi positivi;<br>b) stravaso tumorale oltre la regione del fianco (prima o durante l'atto chirurgico) e diffusa colonizzazione peritoneale;<br>c) metastasi peritoneali disseminate;<br>d) il tumore si estende oltre i margini di sezione chirurgica micro- o macroscopicamente;<br>e) il tumore non è completamente asportabile a motivo di un'infiltrazione locale di strutture vitali. |
| IV | **Metastasi ematogene**<br>Polmone, fegato, osso, cervello |
| V | **Tumore di Wilms bilaterale (iniziale o secondario)** |



Digitized by Google

**TAB. III. CLASSIFICAZIONE DELLA INTERNATIONAL UNION AGAINST CANCER**
(da P. Hermanek e L. H. Sobin, 1987)

**Classificazione TNM**

| | | | |
|---|---|---|---|
| T1 | Tumore inferiore ad 80 cm² | pT1 | Incapsulato, asportazione completa |
| T2 | Tumore superiore ad 80 cm² | pT2 | Con invasione, asportazione completa |
| T3 | Rottura prima del trattamento | pT3a | Asportazione incompleta, residui tumorali microscopici |
| | | pT3b | Asportazione incompleta, residui tumorali macroscopici |
| | | pT3c | Tumore non asportato |
| T4 | Tumori bilaterali | pT4 | Tumori bilaterali |
| N1 | Linfonodi regionali | pN1a | Asportazione completa delle metastasi |
| | | pN1b | Asportazione incompleta delle metastasi |

**Suddivisione in stadi**

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Stadio I | T1 N0 M0 | | pT1 | pN0 | pM0 |
| Stadio II | T2 N0 M0 | | pT1 | pN1a | pM0 |
| | | | pT2 | pN0 | pM0 |
| | | | pT2 | pN1a | pM0 |
| Stadio III | T1 N1 M0 | IIIA | pT3a | pN0/N1a | pM0 |
| | T2 N1 M0 | | | | |
| | T3 ogni N M0 | IIIB | pT1 | pN1b | pM0 |
| | | | pT2 | pN1b | pM0 |
| | | | pT3a | pN1b | pM0 |
| | | | pT3b | ogni pN | pM0 |
| | | | pT3c | ogni pN | pM0 |
| Stadio IV A | T1, T2, T3 ogni N M1 | | pT1, pT2, pT3a, b, c | ogni pN | pM1 |
| Stadio IV B | T4 ogni N ogni M | | pT4 ogni | pN ogni | pM |

Restano da precisare il significato biopatologico di questa lesione e il suo rapporto con il TW cui in alcuni casi si associa. Si tratta di una neoplasia vera e propria, di un precursore del TW oppure di una patologia malformativa?

*Nefroma mesoblastico*

Rappresenta il più comune tumore renale del neonato, ove circa il 50% dei casi è diagnosticato nella prima settimana di vita, senza predilezione per l'uno o l'altro sesso. È spesso associato a polidramnio e nella maggior parte dei casi si tratta di una massa addominale asintomatica. Possono comparire sintomi di ipertensione e insufficienza miocardica. Il tumore frequentemente origina da cisti multiloculari e raramente si accompagna a calcificazioni. Il nefroma mesoblastico (NM) appare come una massa di colorito bianco-grigiastro o giallastro che presenta al taglio aree mucoidi, zone cistiche e più rari *foci* emorragici.

*Nefroma cistico*

Comprende il 2-5% dei tumori renali e si presenta come una lesione cistica multiloculare monolaterale, ben circoscritta, che deve essere differenziata da un rene multicistico displastico. Il nefroma cistico si localizza in prossimità di uno dei due poli renali e disloca perifericamente il parenchima sano circostante, che risulta così compresso dalle aree cistiche.

**Sintomatologia e diagnostica**

Un TW appare quasi sempre come una massa addominale a superficie liscia, localizzata nell'ipocondrio e nella regione lombare, che talora raggiunge la fossa iliaca ed oltrepassa la linea mediana. L'astenia, una dolorabilità addominale mal definita e la micro-macroematuria recidivante (30% dei casi) sono i sintomi più comuni. Anemia, febbricola e dimagrimento, così comuni nel neuroblastoma, sono di raro riscontro nel paziente portatore di TW, che è quasi sempre un bambino in buone condizioni generali. L'ipertensione può accompagnarsi a questa neoplasia ed è motivata da un'iperincrezione reninica e iperaldosteronismo secondario oppure dalla compressione diretta dei vasi renali.

Solo occasionalmente la presenza di metastasi polmonari, la rottura del tumore, un varicocele secondario, un quadro di insufficienza cardiocircolatoria oppure una sindrome di Cushing sono il primo segnale di una neoplasia altrimenti ancora misconosciuta. Poiché non sono conosciuti *markers* tumorali specifici, le differenti tecniche ecoradiografiche sono attualmente le uniche metodiche che consentono di giungere alla diagnosi preoperatoria di TW.

La radiografia dell'addome in bianco, l'ecografia renale e una radiografia del torace in due proiezioni costituiscono il primo gradino nella valutazione di un probabile TW. Le comuni metodiche urografiche evidenziano un dislocamento pielocaliceale, meglio visibile in caso di n. voluminosi (fase escretoria); invece, il neuroblastoma pararenale, agendo dall'esterno, tende a dislocare o a comprimere l'intero rene.

L'ecografia precisa meglio la sede intra- o extrarenale, la natura solida o cistica della massa e l'eventuale estensione trombotica intravenosa. Il tessuto tumorale possiede una ecogenicità assai eterogenea: le zone anecogene sono più spesso sede di necrosi o emorragie, i *foci* di ossificazione sono iperecogeni e i margini tumorali sono delineati da





Digitized by Google

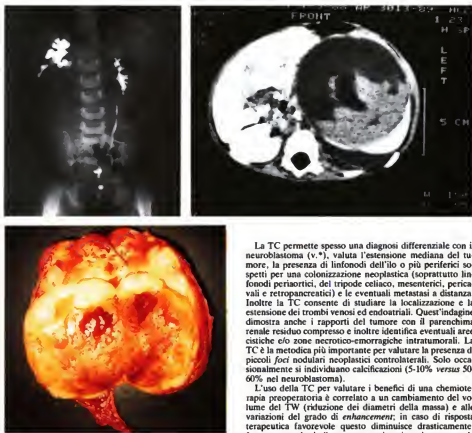



Fig. 3. Paziente S. D., età: 1,6 anni. N. sinistro. *In alto, a sinistra*: urografia; pronta eliminazione del mezzo di contrasto da parte del rene destro, lieve ritardo di eliminazione da parte del rene sinistro, le cui cavità calico-pieliche sono compresse in alto e anteriormente. *In alto, a destra*: TC; grossolana neoformazione a partenza dalla regione intermedia e dalla superficie anteriore del rene sinistro. La struttura appare disomogenea per la presenza di vaste aree necrotiche. La massa supera la linea mediana e disloca l'aorta e la cava controlateralmente. *In basso, a sinistra*: pezzo operatorio; voluminosa neoformazione (10 × 9 × 11 cm) con aree necrotiche ed emorragiche che risparmia parzialmente il polo superiore del rene sinistro.

linee ecodense o ecolucenti nette e distinte. L'ecografia è in grado di discriminare tra un vasto numero di processi morbosi, soprattutto: idronefrosi, malformazioni cistiche, amartomi.

L'arteriografia mantiene un ruolo preciso solo se è in programma l'esecuzione di un'eminefrectomia e soprattutto in caso di tumore bilaterale; altre indicazioni sono costituite dalla presenza di un rene muto all'urografia e dal sospetto di un TW in rene ectopico.



La TC permette spesso una diagnosi differenziale con il neuroblastoma (v.*), valuta l'estensione mediana del tumore, la presenza di linfonodi dell'ilo o più periferici sospetti per una colonizzazione neoplastica (soprattutto linfonodi periaortici, del tripode celiaco, mesenterici, pericavali e retropancreatici) e le eventuali metastasi a distanza. Inoltre la TC consente di studiare la localizzazione e la estensione dei trombi venosi ed endoatriali. Quest'indagine dimostra anche i rapporti del tumore con il parenchima renale residuo compresso e inoltre identifica eventuali aree cistiche e/o zone necrotico-emorragiche intratumorali. La TC è la metodica più importante per valutare la presenza di piccoli *foci* nodulari neoplastici controlaterali. Solo occasionalmente si individuano calcificazioni (5-10% *versus* 50-60% nel neuroblastoma).

L'uso della TC per valutare i benefici di una chemioterapia preoperatoria è correlato a un cambiamento del volume del TW (riduzione dei diametri della massa) e alle variazioni del grado di *enhancement*; in caso di risposta terapeutica favorevole questo diminuisce drasticamente, fatto questo che indica una necrotizzazione intratumorale intensa e marcata.

L'ecografia e la TC sono ancora di valido ausilio nel *follow-up* postchirurgico del letto tumorale, del tumore residuo non asportabile e del rene controlaterale. Infatti si possono verificare recidive locali o pelviche precoci e la comparsa di metastasi controlaterali o di un secondo tumore metacrono, con conseguente variazione dello stadio della neoplasia. I limiti della TC sono costituiti da quelle piccole aree tumorali di diametro inferiore ai 5 mm, spesso misdiagnosticate.

La RMN ha dei vantaggi ulteriori rispetto alla TC: non è infatti fonte di radiazioni ionizzanti, permette dei tagli assiali, sagittali, coronali e obliqui ed evidenzia senza l'ausilio di un mezzo di contrasto le differenze di densità dei vari tessuti, inoltre rispetto alla TC definisce con maggior dettaglio una compromissione vascolare e un'eventuale trombosi venosa.

La diagnosi differenziale deve tenere presente soprattutto le seguenti patologie: nefroma mesoblastico, neuroblastoma, malformazioni cistiche.

Nelle figg. 3, 4, 5 sono riportati esempi di n. monolaterale nei loro aspetti diagnostici e anatomopatologici.



Digitized by Google

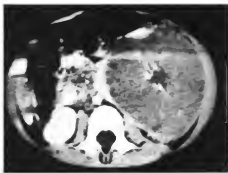
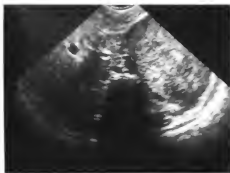



Fig. 4. Paziente G. G., età: 4 anni. N. sinistro. *A sinistra*: l'ecografia rivela la presenza di una massa grossolanamente rotondeggiante a ecostruttura disomogenea che presumibilmente origina dalla faccia anteriore del rene sinistro. La tumefazione raggiunge la linea mediana senza superarla. *A destra*: TC: tumefazione a partenza dalla faccia anteriore del rene di sinistra che presenta zone necrotiche, ma con calcificazioni. La struttura del rene è completamente scompaginata con distanziamento dei calici; il parenchima è assottigliato lungo il margine mediale della formazione. Medializzazione dell'aorta.

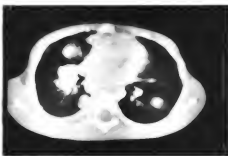
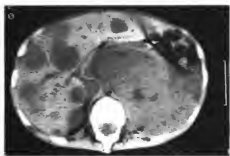



Fig. 5. Paziente A. M., età: 5,6 anni. N. sinistro con metastasi polmonari, mediastiniche, epatiche e invasione midollare (da LI a LIV). *A sinistra*: TC; voluminosa neoformazione del rene sinistro che supera la linea mediana dislocando l'aorta e la cava verso destra. Sono evidenti numerose ripetizioni metastatiche a carico sia del lobo destro che del lobo sinistro del fegato. *A destra*: TC torace: numerose, disseminate formazioni rotondeggianti di diversa grandezza da un grano di pepe ad un mandarino. Il mediastino anteriore-superiore è occupato da tessuto disomogeneo, verosimilmente da riferire a timo infiltrato.

**Terapia**

*Terapia chirurgica*

Il ruolo «curativo» della chirurgia è sempre più unito al significato di stadiazione della malattia.

L'indagine intraoperatoria deve confermare, prima dell'exeresi tumorale, l'eventuale invasione vascolare/pelvica/ureterale da parte della massa. Essenziale, inoltre, è il campionamento bioptico dei linfonodi ilari, paraortici e paracavali, senza tuttavia procedere ad ampie linfadenectomie d'*emblée*: gli studi cooperativi del NWTS dimostrano l'importanza di questi prelievi, poiché i bambini con linfonodi paravascolari satelliti positivi hanno una prognosi peggiore di quelli con soli linfonodi ilari positivi.

Le manipolazioni intraoperatorie del tumore devono essere caute per evitare lacerazioni della capsula e fuoriuscita di materiale tumorale: quest'evenienza raddoppia la percentuale di recidive. La tecnica operatoria si avvale di una laparotomia più di frequente trasversa poco al di sotto dell'arcata costale, proseguita oltre la linea mediana controlateralmente rispetto alla sede del tumore. Le fosse renali vengono esposte previa mobilizzazione opposta del colon, la fascia di Gerota è aperta e, come primo tempo, il rene sano viene delicatamente mobilizzato. All'ispezione dei due poli e delle due superfici renali segue l'eventuale biopsia di aree sospette. L'esame del rene apparentemente sano deve sempre precedere la nefrectomia perché l'eventuale scoperta di una localizzazione bilaterale cambia radicalmente la condotta dell'intervento che da demolitivo diventa necessariamente conservativo. Il trattamento di scelta di una massa monolaterale è la ureteronefrectomia radicale, ove la legatura dell'uretere deve essere eseguita il più in basso possibile. Se esiste un'invasione di strutture circostanti, la resezione dovrà comprendere anche le aree di tessuto invaso (muscolo psoas, diaframma). In caso di trombo neoplastico, intracavale o endocardiaco, una cavotomia o una cardiotomia (più di frequente si tratta di





Digitized by Google

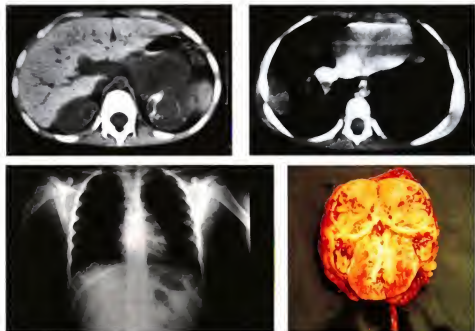



Fig. 6. Paziente P. V., età: 4 anni. N. bilaterale con metastasi polmonari. *In alto, a sinistra*: TC; la neoplasia sinistra, che appare più voluminosa, disloca in basso e medialmente il rene omolaterale. Neoplasia destra in sede polare superiore. Sono presenti piccole calcificazioni confluenti all'interno della neoformazione sinistra. *In alto, a destra*: TC; numerose ripetizioni metastatiche bilaterali, la maggiore delle quali localizzata nel polmone destro misura circa 5 cm. Non si evidenziano alterazioni linfonodali mediastiniche. *In basso, a sinistra*: radiografia del torace di controllo post-chemioterapia. Il parenchima polmonare appare bilateralmente esente da ripetizioni metastatiche. *In basso, a destra*: pezzo anatomico (nefrectomia sinistra). La neoplasia invade completamente il polo superiore del rene, lasciandone indenne la porzione inferiore.

un'atriotomia) in circolazione extracorporea si rendono necessarie.

Tutti i linfonodi resecati debbono essere oggetto di un rigoroso campionamento topografico: la linfadenectomia radicale viene eseguita solo in caso di positività all'esame istopatologico estemporaneo oppure di evidente ed esteso coinvolgimento delle catene paravascolari.

Da ultimo, l'angolo colico viene fissato nella loggia renale vuota, per diminuire il rischio di occlusione intestinale postoperatoria.

Anche le metastasi polmonari possono essere oggetto di exeresi chirurgiche ma solo se periferiche, uniche o comunque localizzate e non evolutive.

*Ruolo della chemio/radioterapia*

La chemioterapia (CHT) è essenziale in ogni stadio, postoperatoriamente, e il protocollo più attuale del NWTS comprende schemi semplificati e abbreviati di trattamento che si avvalgono soprattutto dell'actinomicina D, della vincristina e della doxorubicina. Nel protocollo SIOP, la CHT viene praticata in ogni caso oltre i 6 mesi di età. L'opportunità della CHT preoperatoria è stata oggetto di ampio dibattito.

Avversata dalla scuola americana (NWTS), è stata invece propugnata dalla scuola europea (SIOP: Società Internazionale di Oncologia Pediatrica). I principali argomenti a favore sono: 1) riduzione della massa tumorale e diminuzione dei tempi operatori, del rischio chirurgico e del sanguinamento; 2) irrobustimento della capsula, con riduzione del rischio di rottura della stessa e quindi di disseminazione e di emorragia capsulare. I due principali argomenti a sfavore sono rappresentati dall'azione citolitica della CHT che rende spesso ardua per il patologo l'identificazione dell'istotipo e dei sottotipi tumorali. Infine, la possibilità di un errore iniziale di diagnosi cui segue un trattamento chemioterapico non corretto (ad es. neuroblastoma) o non dovuto (nefroma mesoblastico).

La radioterapia (RXT) interviene a partire dal III stadio, oppure se entro 2 settimane dal trattamento chemioterapico non appare un miglioramento (diminuzione dei diametri tumorali = citoriduzione). Il trattamento radiante viene tuttavia attuato sempre in tutti gli stadi diversi dal I in caso di istologia sfavorevole.

Effetti collaterali cardio- e neurotossici degli agenti chemioterapici sono ben descritti, così anche come una tossicità sulle cellule germinali. Inoltre, l'immunosoppressione provocata da queste terapie potrebbe incidere su un aumento del numero di tumori secondari. Anche se appare



Digitized by Google

assai diminuito il rischio di importanti lesioni vertebrali post-RXT (migliori schermatura e centratura), possono ugualmente comparire atrofie muscolari nella zona irradiata e un diminuito accrescimento dei corpi vertebrali con conseguenti cifosi e/o scoliosi tardive ed ancora si osservano talora processi di fibrosi parenchimale del rene, fegato e polmone.

Con l'attuazione di questi protocolli multidisciplinari la sopravvivenza a distanza del I stadio a due anni è del 95% e, ove l'istologia sia favorevole, è pari circa all'80% nel II e III stadio. Nel IV stadio la sopravvivenza a 2 anni è del 50%. La sopravvivenza a lungo termine per il V stadio è pari al 60-65% in caso di tumori sincroni ed è pari a 0% per i tumori metacroni. Nei casi a istologia sfavorevole, la sopravvivenza a 5 anni è pari al 25%.

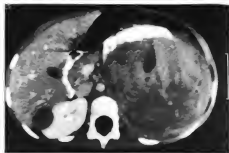
**Nefroblastoma bilaterale**

La bilateralità è presente nel 4-9% di tutti i casi di TW (figg. 6 e 7) ed è una caratteristica che distingue il V stadio della malattia. Rispetto al TW classico, le forme bilaterali sono spesso presenti in bambini più piccoli, e si accompagnano in percentuali maggiori a malformazioni dell'apparato urogenitale e a emipertrofia (rispettivamente 16-20% e 6%); tuttavia, la loro presentazione clinica è simile a quella del TW unilaterale.

In oltre il 60% dei pazienti si riscontra una multifocalità e un'altissima percentuale di tutti i reni affetti esaminati dall'istopatologo dimostra note di nefroblastematosi.

L'anaplasia è una condizione rara nel TW bilaterale e più presente nel sesso femminile. I n. bilaterali possono essere sincroni o metacroni (3%) e, in ogni caso, giustificano una routinaria quanto attenta esplorazione sia preoperatoria (con la TC e/o la RMN) che intraoperatoria di entrambi i reni. Nel caso di tumori metacroni, l'intervallo di comparsa varia da pochi mesi (sincroni misconosciuti?) ad alcuni anni (fino a 10 anni).

Mentre il trattamento del TW monolaterale è ben standardizzato, le terapie descritte per le forme bilaterali sono numerose e comprendono le biopsie bilaterali, le enucleoresezioni, le exeresi polari, la chirurgia su banco con autotrapianto e il trapianto da cadavere o da vivente compatibile. Tuttavia, a dispetto di queste numerose possibilità, il

Fig. 7. Paziente C. D., età: 4,5 anni. N. bilaterale. *In alto, a sinistra*: Rx diretta addome: medializzazione delle anse intestinali e soprattutto del tratto discendente del colon causata da una formazione a densità di parti molli che occupa il fianco sinistro. Assenza di immagini calcifiche. *In alto, a destra*: esame urografico. Presenza di una grossolana neoformazione a livello della regione del fianco sinistro. L'opacità della massa non è dissociabile da quella del rene sinistro le cui cavità pieliche appaiono ampiamente dislocate in direzione anteriore e mediale, compresse e divaricate. *In basso, a destra*: TC: presenza di un voluminoso processo espansivo localizzato al fianco sinistro che prende intimi rapporti con il rene omolaterale. La densità della tumefazione è estremamente disomogenea. Le dimensioni sono di circa 10,2 × 8,5 cm. Il parenchima renale appare compresso dalla lesione e dislocato anteriormente. Dislocazione destro-laterale dell'aorta.

concetto moderno di terapia chirurgica del TW bilaterale concorda con l'obiettivo di preservare quanto più parenchima renale possibile, tranne quando l'istologia sia sfavorevole, ove un'aggressività chirurgica è sempre giustificata. La radioterapia va usata con estrema parsimonia nelle forme bilaterali perché induce fibrosi nel parenchima sano residuo aumentando il rischio di insufficienza renale.

Anche nel TW bilaterale la prognosi è influenzata dalla istologia (favorevole o sfavorevole), dall'età del paziente e dallo stadio del tumore all'atto della diagnosi. I dati percentuali sulla sopravvivenza riportati in differenti esperienze sono concordanti: 87% (Bishop, 1977) e 83% (Wikstrom, 1982) a due anni e 76% (Blute, 1987) a tre anni.

Diversamente dai tumori sincroni, la cui prognosi si avvicina quindi a quella della malattia monolaterale, i tumori metacroni hanno una prognosi sfavorevole: 40% circa di sopravvivenza a due anni. All'incirca il 60-70% di questi bambini va incontro ad *exitus* entro i primi 10-12 mesi per metastasi disseminate e più raramente per insufficienza renale.

È probabile che i TW bilaterali metacroni siano il risultato di una ritardata evidenza clinica di un tumore ad origine da aree di nefroblastematosi presenti nel rene controlaterale: ciò concorderebbe con l'elevata incidenza di nefroblastematosi (circa 70%) associata a TW bilaterale metacrono.

In conclusione, il n. è la neoplasia renale più frequente in età pediatrica e l'accuratezza diagnostica che consente una migliore stadiazione preoperatoria (TC, RMN), la moderna conoscenza clinica e biologica del tumore, l'affinamento delle tecniche chirurgiche, e la più ampia affidabilità degli agenti chemioterapici ne hanno consentito, tutti insieme, degli enormi progressi terapeutici. Questi hanno comportato una sopravvivenza attuale dell'80-95% per le forme monolaterali mentre all'inizio del secolo la mortalità per TW era pari alle attuali percentuali di sopravvivenza.

**Bibliografia**


Beckwith J. B., in Broecker B. H., Klein F. A. eds., *Pediatric Tumors of the Genitourinary Tract*, 1988, Alan Liss, New York.

Beckwith J. B., Palmer N. F., *Cancer*, 1978, **41**, 1937.

Bishop H. C., Teffi M., Evans A. E., D'Angio G. J., *J. Pediatr. Surg.*, 1977, **12**, 631.

Blute M. L. *et al.*, *J. Urol.*, part 2, 1987, **138**, 968.

Boglino C., *Nephroblastomatosis and bilateral Wilms' tumor*, XVI Internationales Symposium Österriehische Gesellschaft für Kinderchirurgie, Obergurgl, gennaio 1987.

Boglino C., Ciprandi G., Silviano A., Serventi P., Inserra A., *Medicina-Riv. EMI*, 1990, **10**, 228-242, *bibl.*

Currarino G., *Renal Neoplasms*, in *Caffey's Pediatric X-Ray Diagnosis: an Integrated Imaging Approach*, 1985, Year Book Medical Publisher, Chicago.

D'Angio G. J., *Biology and Management of Wilms Tumors*, in *Cancer in the Young*, 1982, Masson, New York.

D'Angio G. J., Beckwith J. B., Breslow N. E., *Cancer*, 1980, **45**, 1791.

D'Angio G. J., Breslow N., Beckwith B. *et al.*, *Cancer*, 1989, **64**, 349.

Greenwood M. F., Holland P., *Clinical and Biochemical Manifestations of Wilms tumor*, in Pochedly C., Baum E. S. eds., *Wilms Tumor: Clinical and Biological Manifestations*, 1984, Elsevier Science Publishing Co., New York.

Hermanek P., Sobin L. H. eds., *TNM Classification of Malignant Tumours*, 1987, 4 ed., Springer-Verlag, Berlin-New York.

Hrabovsky E. E., Othersen H. B., deLorimier A. *et al.*, *J. Pediatr. Surg.*, 1986, **21**, 385.

Mehta M. P. *et al.*, *Drugs*, 1991, **42**, 766-780.

Mesrobian H. G., *J. Urol.*, 1988, **140**, 231.

Nesbit M. E., *Cancer*, 1990, **65**, 696.

Tucker O. P. *et al.*, *J. Pediatr. Surg.*, 1986, **21**, 1110.

Wikstrom S., Parkkulainen K. V., Louhimo I., *J. Pediatr. Surg.*, 1982, **17**, 269.

Wilms M., *Die Mischgeschwuelste der Niere*, 1899, Arthur Georgi, Leipzig, pp. 1-90.


CAMILLO BOGLINO, GUIDO CIPRANDI, PAOLO SERVENTI E ALESSANDRO INSERRA

## NEFROPATIE MEDICHE [v. vol. X, col. 97]

SOMMARIO GENERALE



### NEFROPATIE GLOMERULARI (X, 105)

SOMMARIO



#### INTRODUZIONE

Rispetto alla precedente versione di questo capitolo molti concetti nella conoscenza della glomerulonefrite, e di altre malattie con interessamento glomerulare, come il diabete e l'amiloidosi, si sono modificati. Tuttavia queste nuove conoscenze non hanno molto cambiato o migliorato il nostro armamentario terapeutico. Al contrario, con l'estendersi delle nostre conoscenze, sembra essere più difficile la manipolazione dei complessi eventi immunologici che inducono le manifestazioni cliniche delle malattie in questione.

#### PATOGENESI DELLA GLOMERULONEFRITE

Si ritiene ancora oggi che la maggior parte delle glomerulonefriti sia il risultato di deviazioni del sistema immunitario, ma l'interpretazione di tali alterazioni è attualmente diversa rispetto a quanto ipotizzato negli anni '70. Oggi, si ritiene che il danno tessutale derivi dalla formazione di complessi immuni formati direttamente da anticorpi e antigeni che si fissano *in situ* separatamente. Questa interpretazione può spiegare la patogenesi di quasi tutte le glomerulonefriti, sia cliniche che sperimentali. Si pensa invece





Digitized by Google

che il ruolo dei complessi solubili circolanti sia molto meno importante, e anzi molti osservatori credono che i complessi circolanti siano solo epifenomeni collaterali. Soprattutto, sembra quasi certo che i depositi subepiteliali, che si trovano nella glomerulonefrite membranosa, possano formarsi *in situ*, senza la partecipazione dei complessi solubili circolanti.

Restava difficile tuttavia da spiegare in che modo gli antigeni e gli anticorpi possano penetrare separatamente la membrana basale del glomerulo, per poi formare aggregati immuni subepiteliali. Normalmente la membrana basale, e le cellule epiteliali ed endoteliali, hanno una *carica anionica* che dipende dalla presenza di glicoproteine anioniche. Nel 1980, Border *et al.* e successivamente Gallo *et al.* (1983) dimostrarono che antigeni o anticorpi con carica cationica penetrano più facilmente la parete capillare, mentre proteine che portano una carica negativa (anionica) vengono respinte per localizzarsi poi nel mesangio.

È stato anche suggerito da Kerjashki *et al.* (1987) che nel modello sperimentale di nefrite di Heymann, gli anticorpi formatisi dopo immunizzazione con antigeni tubulari, iniettati in un altro ratto, possano legarsi con antigeni (quali gp 330, lo stesso antigene dell'orletto a spazzola dei tubuli o RTA) sulla superficie delle cellule epiteliali del glomerulo. Questi complessi gp330-anti gp330 si muovono sulla superficie della cellula, e si depositano, infine, per un processo di spargimento, sulla lamina rara esterna della membrana basale glomerulare dove si formano aggregati subepiteliali. Finora, questo meccanismo non è stato dimostrato nella glomerulonefrite membranosa umana, ma un processo analogo sembra molto probabile.

Un terzo meccanismo di formazione degli aggregati subepiteliali è stato descritto da Makino *et al.*, 1988. Questo modello è basato sull'iniezione di un anticorpo diretto contro l'eparansolfato, una macromolecola anionica che si trova in grande quantità, e in modo discontinuo, sulla lamina rara esterna della membrana basale capillare. Anche con questo modello si possono produrre aggregati subepiteliali granulari.

Vi sono quindi molte prove sperimentali che documentano almeno due meccanismi con cui si possono formare i depositi subepiteliali solo con autoanticorpi, *senza antigeni estranei*. È possibile che tutti questi meccanismi (formazione *in situ*, e i due tipi di meccanismi legati agli autoanticorpi) svolgano un ruolo nella glomerulonefrite umana, specialmente nella forma membranosa.

Il ruolo dei *complessi insolubili* nella glomerulonefrite umana rimane ancora incerto. Forse questa patogenesi può svolgere un ruolo nella genesi della glomerulonefrite membranoproliferativa (GNMP), ma ancora una volta è possibile che questo tipo di glomerulonefrite possa essere correlato alla formazione *in situ* di complessi subendoteliali, come suggeriscono Johnson *et al.*, 1988.

**Genesi della nefrite**

Le associazioni tra antigeni codificati nell'MHC (*Major Histocompatibility Complex*) (v. HLA; HLA*; ISTOCOMPATIBILITÀ*) e tipi diversi di glomerulonefrite (v. NEFROPATIE MEDICHE [X, 113; tab. II]), sono state confermate. Inoltre, si sta sempre più riconoscendo l'importanza degli antigeni dell'MHC di classe II, DQ. Si ritiene che molte associazioni tra malattie e antigeni del MHC dipendano dagli antigeni DQ, con cui gli antigeni HLA dei *loci* A, B e DR sono legati, dando luogo alla formazione di aplotipi di parecchi antigeni ereditati insieme.

Di recente, la descrizione degli antigeni HLA è divenuta più precisa; sia la struttura tridimensionale che la sequenza aminoacidica delle catene proteiche sono state identificate, dapprima negli individui sani. Al momento, le strutture delle catene che formano DR e DQ nei pazienti affetti da glomerulonefrite sono conosciute solo in parte. Le strutture del DR2 in pazienti con sindrome di Goodpasture sono sfortunatamente normali (Burns *et al.*, 1989), ma le strutture dettagliate del DR e DQ nella glomerulonefrite membranosa (legate a DR3 nei Caucasici e DR2 nei Giapponesi) rimangono ancora sconosciute. La nefropatia a lesioni minime è legata a DQB1 e a DR7B1 (Clark, 1990).

Negli ultimi anni, l'importanza delle *alterazioni interstiziali* del danno renale delle glomerulonefriti è stata sottolineata da molti AA. In quasi tutti i tipi di glomerulonefrite, le alterazioni interstiziali possono predire il decorso della malattia più precisamente delle alterazioni glomerulari. Inoltre, vi è una stretta correlazione tra le alterazioni interstiziali ed il flusso glomerulare. Recentemente, è stato possibile studiare i fenotipi delle cellule nell'infiltrato interstiziale con anticorpi monoclonali specifici. La maggior parte di queste cellule è formata da linfociti CD4+ T *helper*, con alcuni linfociti CD8+ citotossici, e una grande proporzione di macrofagi (Alexopoulos *et al.*, 1989; D'Amico, 1988). Queste cellule potrebbero determinare la prognosi renale, e lo sviluppo di fibrosi interstiziale.

La sintesi di collagene da parte dei fibroblasti è indotta da mitogeni rilasciati da molte cellule, soprattutto macrofagi, polimorfonucleati e piastrine. Tra questi mitogeni vi sono il *platelet derived growth factor* (fattore di crescita derivato dalle piastrine, PDGF), l'*epithelial growth factor* (fattore di crescita epiteliale, EGF), il *transforming growth factor* β (fattore di crescita trasformante di tipo β, TGFβ), il *platelet factor 4* (il fattore piastrinico 4, PF4), e il C5b-9 (Haensch *et al.*, 1989). Inoltre, i fibroblasti stessi sono in grado di rilasciare molte citochine.

**Mediazione della lesione**

Le nuove conoscenze in questo campo sono: *a)* l'importanza dei macrofagi nel danno glomerulare (Holdsworth *et al.*, 1985), ed il ruolo dei radicali liberi d'ossigeno (Shah, 1989); *b)* la dimostrazione che i linfociti T sono presenti nel glomerulo e sono anche coinvolti nel danno glomerulare (Nolasco *et al.*, 1987). Queste due cellule sono responsabili della maggior parte del danno glomerulare e della proteinuria nelle glomerulonefriti proliferative sperimentali e, probabilmente, cliniche; *c)* l'importanza delle componenti terminali del complemento. Negli anni '70, si riteneva che il danno glomerulare fosse mediato dalla generazione di C3a, C3b e C5a. Oggi si pensa invece che sia il MAC (*membrane attack complex*, complesso che attacca la membrana), cioè C5b-9, il maggior mediatore delle lesioni. Infatti, il MAC è capace di indurre proteinuria senza la partecipazione di cellule (Salant *et al.*, 1989), e di stimolare la sintesi di collagene di tipo IV nel glomerulo (Haensch *et al.*, 1989). Questo meccanismo è il responsabile quasi esclusivo della proteinuria e del danno glomerulare nella glomerulonefrite membranosa sperimentale, e anche nella forma umana.

Infine, le cellule del glomerulo stesso, siano esse mesangiali, endoteliali o epiteliali, sono tutte capaci di produrre e di rilasciare sostanze proinfiammatorie, ad es. prostaglandine come $TXA_2$ e $PGI_2$, attivatori procoagulanti, interleuchine come IL-1, IL-8, mitogeni come PDGF ecc. Il significato di questa partecipazione delle cellule glomerulari al danno non è ancora chiaro.

**Patogenesi della glomerulopatia a lesioni minime**

Nonostante i molti studi condotti, è deludente dover concludere che non si è ancora in grado di spiegare la causa





Digitized by Google

dell'alterata permeabilità del glomerulo in questa malattia (Taube e Williams, 1988; Schnaper, 1989). Rimane ancora accreditata l'idea che alcuni linfociti producano un fattore capace di indurre un aumento della permeabilità della parete capillare del glomerulo, forse tramite la neutralizzazione della sua carica anionica. Ma tuttavia nessuno è stato in grado di identificare la sostanza (o le sostanze) dannosa, o di descrivere le cellule nemiche. Si è solo accertato che queste cellule sono inibite dalla ciclosporina, come pure dal prednisolone, dalla ciclofosfamide e dall'azatioprina (v. sotto). Se si ammette che la ciclosporina inibisca la sintesi di IL-2 in linfociti T CD4+ attivati, sarebbe quasi certo il coinvolgimento di queste cellule T *helper* nella patogenesi della malattia.

**Glomerulosclerosi segmentale focale con ialinosi**

È oggi universalmente ammesso che questo quadro istologico rappresenta la forma più severa di uno spettro di lesioni, che include all'altro estremo la malattia a lesioni minime. I nuovi dati sono rappresentati dalle osservazioni sui pazienti che presentano una recidiva della malattia dopo trapianto renale. All'inizio è presente solo proteinuria, ma col tempo si sviluppano le tipiche lesioni della glomerulosclerosi focale, con sviluppo di insufficienza renale. Inoltre, in qualche raro paziente, si può osservare il passaggio da una sindrome nefrosica recidivante ma steroidosensibile ad una steroidoresistente con progressione verso l'insufficienza renale. Infine, abbiamo appreso negli ultimi anni che circa il 25% di bambini e quasi il 20% degli adulti con glomerulosclerosi sono steroidosensibili, con ricadute frequenti come nella malattia a lesioni minime e senza evoluzione verso l'insufficienza renale.

## ASPETTI ISTOPATOLOGICI E IMMUNOPATOLOGICI DELLA GLOMERULONEFRITE UMANA

Non vi sono recenti osservazioni in questo campo se si eccettua il già descritto uso di anticorpi monoclonali (Churg e Sobin, 1982). Tuttavia, due nuovi tipi istologici di glomerulopatia sono stati descritti negli ultimi anni: la malattia da catene leggere (*light chain nephropathy*), e la malattia con membrana sottile (*thin membrane disease*).

**Malattia da catene leggere**

Questo tipo di malattia fa parte delle cosiddette *discrasie plasmacellulari*, e talvolta può evolvere entro pochi anni in un mieloma clinicamente evidente (Minetti *et al.*, 1988). Di solito è presente proteinuria, talora con sindrome nefrosica, ematuria microscopica e insufficienza renale più o meno severa. Raramente, vi può essere un'insufficienza renale rapidamente progressiva. Nel plasma, si rileva all'elettroforesi una gammapatia monoclonale, formata da catene leggere. L'esame istologico midollare rivela solo un aumento delle plasmacellule, senza altri aspetti patologici.

Alla biopsia renale, il glomerulo può sembrare quasi normale nei casi precoci, ma di solito vi sono alterazioni più o meno importanti. Queste sono frequentemente rappresentate da masse nodulari nel mesangio, positive all'impregnazione al PAS e argentica, senza infiltrazione cellulare (figg. 1 e 2). Questo quadro rassomiglia molto a quello della glomerulopatia diabetica. Pertanto, è possibile che alcuni dei casi descritti nel passato come «nefropatia diabetica senza intolleranza al glicoso o glicosuria» fossero in realtà casi di malattia da catene leggere. L'altro quadro istologico che richiama fortemente la malattia da catene leggere è la GNMP di tipo II, il cui quadro istologico è spesso una glomerulonefrite lobulare. Nella malattia da catene leggere, le catene leggere stesse depositate lungo la membrana basale del glomerulo e dei tubuli possono simulare, in alcune impregnazioni (quali ad es. il PAS), i depositi densi lineari della GNMP di tipo II.

Comunque, la diagnosi (Gallo *et al.*, 1980; Ganeval *et al.*, 1984) può essere posta con certezza mediante l'uso di anticorpi specifici contro epitopi delle catene leggere. Gli anticorpi usualmente impiegati in immunofluorescenza sono diretti soprattutto contro determinanti presenti sulle catene pesanti, $\alpha$, $\mu$ o $\gamma$ per IgA, IgM o IgG. Sono dunque necessari studi specifici per porre diagnosi di malattia da catene leggere. All'esame microscopico è possibile rilevare un deposito lineare più o meno forte lungo le membrane basali del glomerulo, la capsula di Bowman ed i tubuli, nei noduli e talora nei piccoli vasi, di solito con anticorpi anti-catene *k* (fig. 3, *in alto*); più raramente, in circa il 10% dei casi, è possibile osservare solo catene $\lambda$. In alcuni casi si rilevano non solo catene leggere, ma anche depositi lineari glomerulari e tubulari positivi, evidenziati con anticorpi anti-catene $\gamma$, cioè, catene pesanti (Ganeval *et al.*, 1984).

Vi possono anche essere alterazioni diverse: amiloidosi nei vasi o nella membrana basale capillare; alla microscopica elettronica, depositi densi irregolari lungo la membrana basale (fig. 3, *a destra*) e alterazioni variabili nell'interstizio.

L'evoluzione della malattia è sfavorevole, con progressione verso l'insufficienza renale entro 2-10 anni. Talvolta la malattia evolve in mieloma, con un midollo che mostra un eccesso di plasmacellule. Il trattamento con prednisolone e citotossici (ciclofosfamide o melfalan) è logico, ma sembra solo parzialmente efficace (Minetti *et al.*, 1988; Confalonieri *et al.*, 1987).

**Malattia con membrana sottile**

Il confine di questa «malattia» non è ancora chiaro. Da una parte vi sono casi con «ematuria familiare benigna», la maggior parte rilevabile in bambini con familiari affetti dalla stessa patologia, e con un'evoluzione in genere favorevole (Tiebosch *et al.*, 1989). La malattia colpisce entrambi i sessi, e la trasmissione genetica rimane incerta. D'altra parte, ci sono altri casi sporadici, la maggior parte

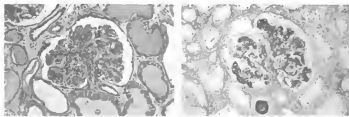
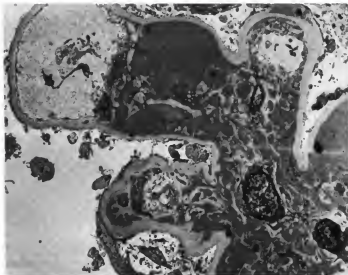



Fig. 1. Malattia da catene leggere, forma nodulare. *A sinistra*: aspetto del glomerulo al microscopio ottico. Impregnazione al PAS (400 ×). *A destra*: aspetto del glomerulo dopo tecnica immunoperossidasica con anticorpo anti-*k*: depositi diffusi nodulari nel glomerulo (400 ×).





Digitized by Google

Fig. 2. Malattia da catene leggere, forma nodulare. Aspetto al microscopio elettronico: depositi mesangiali nodulari (3780 ×).

rilevabili in adulti con ematuria persistente e proteinuria incostante, con familiari sani e con evoluzione talvolta sfavorevole verso l'insufficienza renale (Abe *et al.*, 1987; Dische *et al.*, 1985). Non è ancora chiaro se questi due gruppi facciano parte di una stessa malattia, sebbene il quadro istologico sembri identico. Non è neppure chiaro quale sia l'esatta relazione di questi gruppi con la sindrome di Alport (v. sotto). Comunque, questo quadro istologico è comune nei pazienti con ematuria isolata, sia bambini che adulti. Di recente, Dische *et al.* (1991) hanno descritto un assottigliamento della membrana basale glomerulare nel 10% di donatori sani di reni trapiantati. Al microscopio ottico e con immunofluorescenza, il rene sembra quasi normale e la diagnosi è posta con la microscopia elettronica (fig. 4). Le membrane basali glomerulari dimostrano un diffuso assottigliamento (150-250 nm). Le cellule epiteliali sono normali.

In questo tipo di glomerulopatia con ematuria, la membrana basale del glomerulo è capace di fissare un anticorpo presente nel plasma dei pazienti con sindrome di Goodpasture (anticorpo anti-membrana basale glomerulare, anti-MBG), o con la sindrome di assenza di rotula e alterazioni

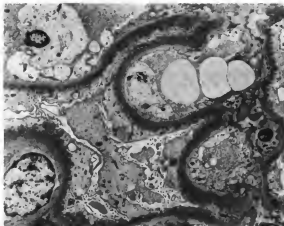
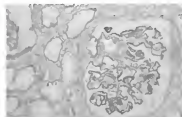



Fig. 3. Malattia da catene leggere, forma lineare. *In alto*: aspetto del glomerulo e dei tubuli con tecnica dell'immunoperossidasi con anticorpo anti-*k*: depositi lungo le membrane basale, glomerulare e tubulare (400 ×). *A destra*: aspetto dei depositi di catene leggere lungo la membrana basale (microscopia elettronica; 3780 ×).





Digitized by Google

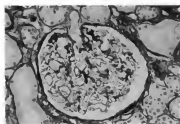
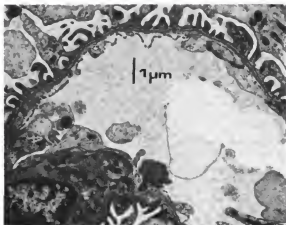



Fig. 4. Malattia con membrana sottile. *In alto*: aspetto quasi normale del glomerulo alla microscopia ottica. Colorazione con argento (400 ×). *A destra*: assottigliamento diffuso (200 nm) della membrana basale capillare glomerulare al microscopio elettronico. La struttura dei podociti rimane normale (12.640 ×).

ungueali (*nail-patella syndrome*). Nella sindrome di Alport, invece, manca nella membrana basale un antigene glicoproteico di 28 kd (v. sotto), che è l'antigene della sindrome di Goodpasture, e dunque l'anticorpo non può fissarsi alla membrana basale. Queste diverse caratteristiche possono essere sfruttate per una corretta diagnosi differenziale tra ematuria familiare e non familiare.

## SINDROMI CLINICHE DELLA GLOMERULONEFRITE E LORO TRATTAMENTO GENERALE

Nella sindrome da ematuria persistente o ricorrente, si deve tener conto della possibilità che si tratti di una malattia con membrana sottile (v. sopra, col. 5304).

### Sindrome di Alport

È oggi chiaro che la sindrome classica ereditaria di Alport, con sordità percettiva ai toni alti, lenticono anteriore con opacità del cristallino e glomerulopatia con storia familiare, è quasi sempre una malattia ereditaria legata al sesso. Il gene è localizzato sul braccio lungo del cromosoma X in posizione q21.3-22 (Brunner *et al.*, 1988; Flinter *et al.*, 1988; 1989); di recente il gene stesso è stato isolato (Barker *et al.*, 1990). In rari casi la malattia sembra essere ereditata in modo autosomico dominante o recessivo; non si sa se questi casi rappresentino veramente una variante della sindrome di Alport o un'altra malattia ereditaria (Chantler e Flinter; Grunfeld, 1985). È chiaro oggi che l'antigene, per cui codifica il gene, è nella catena α5 del collagene di tipo IV. Quest'antigene glicoproteico di 28 kd è assente nelle membrane basali di organi diversi in soggetti maschili colpiti dalla sindrome (emizigoti), ed è presente in modo discontinuo sulle membrane basali delle madri, come si evince dall'inattivazione casuale del cromosoma X nelle portatrici di sesso femminile (eterozigoti). Quest'assenza di antigeni della membrana basale è importante; infatti nei soggetti con sindrome di Alport trapiantati con un rene normale che contiene l'antigene assente nel rene di pazienti affetti da tale sindrome, possono formarsi anticorpi anti-MBG (membrana basale glomerulare), capaci a volte di portare allo sviluppo di una successiva glomerulonefrite extracapillare con semilune (Fleming *et al.*, 1988; de Heuvel, 1989). V. anche: ALPORT, SINDROME DI*.

### Sindrome nefrosica

È evidente oggi che i quadri istologici di pazienti con sindrome nefrosica sono diversi nell'adulto giovane e nell'anziano (fig. 5). Amiloidosi e glomerulopatia membranosa sono frequenti nell'anziano, ma si può anche osservare una nefropatia a lesioni minime in pazienti di 70 o 80 anni.

#### *Fisiopatologia dell'edema*

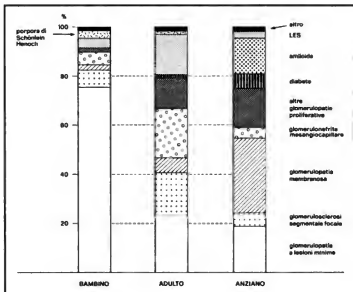
È divenuto chiaro dopo il 1983 che la spiegazione classica, illustrata nella fig. 15 della voce della II ed. (X, 160), non è valida nella maggior parte dei soggetti affetti da tempo da sindrome nefrosica, sebbene sia possibile che eserciti un ruolo nella formazione iniziale dell'edema. L'ipovolemia è rilevabile solo raramente nella maggior parte di soggetti con una sindrome nefrosica datante da tempo (Geers *et al.*, 1984). Inoltre, nei ratti con un modello di sindrome nefrosica da iniezione unilaterale di puromicina, Ichikawa *et al.* (1983) hanno dimostrato che la proteinuria e la ritenzione di sodio si sviluppano solo nel rene iniettato con puromicina, anche se entrambi i reni sono perfusi con plasma che contiene un basso livello di albumina. Sembra quindi che la pressione oncotica non sia rilevante nello sviluppo dell'edema a lungo termine. Questi importantissimi risultati sono stati confermati di recente da Firth *et al.* (1989), che hanno studiato il rene perfuso isolato con lo stesso modello di sindrome nefrosica da puromicina. Questi AA. hanno dimostrato *in vitro* che i livelli di albumina, tra 0 e 100 g/l, non influenzano la ritenzione di sodio nel rene proteinurico. Sembra che sia la proteinuria stessa a produrre un segnale al tubulo, che a sua volta determina la ritenzione di sodio da parte del tubulo distale con un meccanismo ancora sconosciuto.

#### *Complicanze specifiche*

Si ritiene oggi (Cameron, Wass e Ogg, 1988), che la *diatesi trombotica* dei pazienti nefrosici sia principalmente correlata all'aumento dell'aggregazione piastrinica. Questo, a sua volta, dipende da diversi fattori: aumento del livello del fattore von Willebrand nel plasma, aumento dell'acido arachidonico disponibile, a causa della diminuita concentra-

Digitized by Google

Fig. 5. Distribuzione della frequenza dei diversi quadri istologici della sindrome nefrosica del bambino, dell'adulto e dell'anziano.

zione di albumina nel plasma, e dall'iperlipidemia, che può modificare la composizione dei lipidi nella membrana plasmatica delle piastrine.

**Trattamento della sindrome nefrosica**

*Edema*

Nei pazienti con edema imponente, vale la pena di aggiungere metolazone (5-20 mg) ad alti dosaggi di furosemide. È ancora importante che l'albumina e. v. ed i diuretici potenti siano usati insieme, e non in modo isolato, nei malati con gravi edemi. Da un lato, l'albumina può scatenare un edema polmonare in assenza di una diuresi adeguata; d'altro canto, i diuretici sono in grado di provocare ipotensione severa e talora insufficienza renale acuta.

*Dieta*

Di recente, Kaysen *et al.* (1988) hanno contestato l'idea che nella sindrome nefrosica sia utile una dieta contenente 100-120 g di proteine al giorno. Gli AA. ritengono che questa dieta aumenti la proteinuria, senz'alcun aumento dell'albumina nel sangue. Essi raccomandano invece una dieta con basso contenuto di proteine. Tale dieta potrebbe, però, indurre a lungo termine un bilancio azotato negativo. Attualmente, si preferisce impiegare una dieta con normale contenuto in proteine, cioè 70-80 g/24 h circa, di cui la maggior parte dovrebbe essere d'origine animale, ad alto valore biologico (Mansy *et al.*, 1989).

*Controllo della proteinuria*

L'impiego dell'*indometacina* nella sindrome nefrosica per il suo effetto antiproteinurico è trattato nella II edizione (v. NEFROPATIE MEDICHE, X, 168). Di recente, è stato segnalato che l'ibuprofene, l'ac. meclofenamico e altri farmaci bloccanti la ciclossigenasi (Don *et al.*, 1989; Heeg *et al.*, 1987; 1989; Vriesendorp *et al.*, 1985) sembrano abbastanza efficaci. Rimane però il rischio di insufficienza renale acuta, soprattutto in individui con insufficienza renale e sindrome nefrosica importante. Va dunque raccomandato di *non* deidratare eccessivamente questi pazienti con diuretici; al contrario l'apporto di sale dovrebbe essere normale durante l'impiego di questi farmaci, utili ma potenzialmente pericolosi.

Anche il *captopril* (Taguma *et al.*, 1985; Fabri *et al.*, 1989) e altri inibitori dell'enzima di conversione (ACE-inibitori), come enalapril, benazepril e lisinopril, hanno dimostrato un effetto antiproteinurico nella nefropatia diabetica, nell'insufficienza renale, e nella sindrome nefrosica. Contrariamente a quanto raccomandato per gli inibitori della ciclossigenasi, è opportuno mantenere un apporto di sale *ridotto* durante il trattamento con inibitori dell'enzima di conversione (Heeg *et al.*, 1987; 1989) perché si possa ottenere una diminuzione della proteinuria. Si può osservare quest'effetto antiproteinurico con aumento del livello di albumina nel plasma senza modificazioni della pressione arteriosa. Di recente, alcuni AA. hanno utilizzato l'ibuprofene e il captopril insieme, con effetti antiproteinurici additivi. Tuttavia, questo trattamento con due farmaci rimane ancora sperimentale.

L'uso della *ciclosporina* verrà trattato più avanti (v. sotto coll. 5312 e 5315).

*Iperlipidemia*

Vi sono oggi nuovi farmaci efficaci contro l'iperlipidemia rappresentati dagli inibitori dell'enzima HMG-CoA-reduttasi, come lovastatina (Golper *et al.*, 1989), simvastatina (Rabelink *et al.*, 1988) e pravastatina. Questi farmaci interferiscono su una tappa precoce della sintesi epatica di colesterolo; essi sono in grado di ridurre l'ipercolesterolemia

Digitized by Google

**TAB. I. EFFETTI DEL TRATTAMENTO CON CICLOSPORINA IN 130 PAZIENTI ADULTI CON SINDROME NEFROSICA E NEFROPATIA A LESIONI MINIME, O CON GLOMERULOSCLEROSI SEGMENTARIA FOCALE (GSF) CON IALINOSI** (da Meyrier, 1989)

| | Risposta al II ciclo con prednisolone | | Quadro istologico all'esordio | |
|---|---|---|---|---|
| | remissione | resistenza | lesioni minime | GSF |
| Risposta alla ciclosporina | 61% | 26% | 64% | 18% |
| Resistenza alla ciclosporina | 39% | 74% | 36% | 82% |

della sindrome nefrosica e anche l'ipertrigliceridemia, senza effetti collaterali importanti, almeno nel breve termine. Non vi sono però dati disponibili sull'impiego a lungo termine. Questi farmaci possono favorire una necrosi muscolare ed elevazioni modeste della creatinfosfochinasi sono frequenti. È dunque indispensabile controllare quest'enzima. È prudente cominciare con un dosaggio modesto, ad es. 10 mg al giorno di simvastatina, con aumento successivo a 20 mg/*die*, fino a un massimo di 40 mg/*die* (Rabelink *et al.*, 1988).

## DECORSO E TRATTAMENTO SPECIFICO DELLE DIVERSE FORME DI GLOMERULONEFRITE

### Decorso e trattamento della nefropatia a lesioni minime

L'evoluzione a lungo termine (20 anni) di bambini con sindrome nefrosica a lesioni minime sottoposti a trattamento è stata studiata in due indagini (Trompeter *et al.*, 1985; Lewis *et al.*, 1989). In genere, la prognosi è favorevole: la maggior parte dei bambini crescono abbastanza bene nonostante la somministrazione prolungata di corticosteroidi. Nei pazienti con frequenti recidive la remissione permanente dopo 10-15 anni è la norma, la funzione renale si mantiene normale, e non si sviluppa ipertensione. Quasi nessun paziente, in questo gruppo di lesioni minime steroidosensibili, sviluppa insufficienza renale.

Per quanto riguarda il trattamento, vi sono due indagini controllate condotte in Germania dal gruppo *Arbeitsgemeinschaft fur Pädiatrische Nephrologie* (APN). La prima indagine ha paragonato un *breve ciclo* di corticosteroide di una settimana dopo la scomparsa della proteinuria, ad un ciclo di 8 settimane come si usa generalmente. Le recidive erano più precoci e più frequenti nel gruppo con trattamento breve. Dunque, un trattamento di 8 settimane resta il migliore.

L'altra indagine ha esaminato, nei bambini con una sindrome nefrosica steroidodipendente, diversi trattamenti con *ciclofosfamide*; uno di lunga durata (12 settimane), e l'altro di 8 settimane come si usa generalmente. Le recidive erano meno frequenti e la remissione più prolungata nel gruppo trattato per 12 settimane. Sembra dunque meglio impiegare un ciclo di ciclofosfamide più prolungato rispetto a quanto si usava pochi anni fa. Un ciclo di 12 settimane è sicuro e senza effetti collaterali, riguardo l'eventuale oncogenicità o sterilità, come uno di 8 settimane. Un ciclo più prolungato, ad es. sei mesi, causa invece effetti collaterali a livello gonadico, inclusa la sterilità. È normale consuetudine usare per 8 settimane un forte dosaggio di prednisolone (ad es. 60 mg/m$^2$ nei bambini e 60 mg/*die* negli adulti). Warshaw *et al.* (1989) hanno però dimostrato nei bambini che 30 mg/m$^2$, o 0,2-0,5 mg/kg, sono ugualmente efficaci. Non vi sono dati di paragone negli adulti.

Un'altra indagine (Imbasciati *et al.*, 1988) ha esaminato gli effetti di un *forte dosaggio e. v. di metilprednisolone* (1 g al giorno per 3 giorni) sulla sindrome nefrosica a lesioni minime, sia nei bambini che negli adulti. La stabilità delle remissioni ottenute con questo trattamento era simile a quella osservata nei controlli trattati per 8 settimane con prednisolone *per os*. Questa modalità di trattamento presenta alcuni vantaggi, soprattutto quando non sia possibile controllare i pazienti a lungo termine, come ad es. in caso di pazienti residenti nel terzo mondo. Inoltre, è sicuro che i malati abbiano ricevuto tutto il trattamento.

Di recente, è stato indagato il ruolo della *ciclosporina* nel trattamento della nefropatia a lesioni minime (Meyrier, 1987; 1989) (tab. I). Questo farmaco si è dimostrato efficace nel favorire la scomparsa della proteinuria. Tuttavia nei pazienti steroidodipendenti si rileva una recidiva immediata al termine del trattamento, così come avviene dopo il trattamento con il corticosteroide. Dunque contrariamente alla ciclofosfamide, la ciclosporina non è in grado di indurre una remissione permanente o di lunga durata. La ciclosporina consente però di evitare o ridurre il dosaggio del corticosteroide con un trattamento simultaneo, ed è forse utile nei casi con grave tossicità da corticosteroidi. A parte questa indicazione, il ruolo della ciclosporina nel trattamento della sindrome nefrosica a lesioni minime non è molto importante negli adulti; nei bambini invece la crescita sarà migliore sotto trattamento con ciclosporina, come pure con prednisolone.

Infine, poiché si ritiene che la nefropatia a lesioni minime sia correlata ai linfociti T, alcuni osservatori hanno impiegato *levamisolo* come stimolante di questi linfociti (Niaudet *et al.*, 1987; La Manna *et al.*, 1988-9). Questo farmaco è efficace in alcuni bambini, ma non in tutti. Tuttavia è possibile impiegarlo allo scopo di diminuire il dosaggio di prednisolone nei nefrosici steroidodipendenti, come con l'uso della azatioprina o della ciclosporina (Imbasciati *et al.*, 1985).

### Glomerulonefrite endocapillare diffusa

Non vi è quasi niente di nuovo da dire su questa malattia. La prognosi favorevole a lunga scadenza (oltre i 20 anni) nei bambini è stata confermata (Clark *et al.*, 1988).

### Glomerulonefrite a rapida evoluzione con estesa formazione di semilune

Nella glomerulonefrite *secondaria ad anticorpi circolanti anti-MBG* (anti-membrana basale glomerulare), con depositi continui lineari di IgG lungo la parete capillare, è stata riconosciuta negli ultimi anni l'efficacia della plasmaferesi associata con ciclofosfamide, purché il trattamento venga instaurato prima della comparsa di insufficienza renale di gravità tale da richiedere la dialisi (Pusey e Lockwood, 1984). Questo trattamento è infatti quasi sempre inefficace se iniziato dopo lo sviluppo d'insufficienza renale terminale. Quindi, bisogna cominciarlo rapidamente non appena si è riconosciuto un quadro di IgG lineare con glomerulonefrite extracapillare. La plasmaferesi e la ciclofosfamide sembrano essere ancora molto efficaci nella prevenzione e nel trattamento delle emorragie polmonari. Il metilpredni-





Digitized by Google

solone e. v. a forti dosi non dimostra alcuna efficacia in questa forma di glomerulonefrite (Bolton, 1984).

Invece, nella glomerulonefrite *extracapillare senza depositi immuni*, così come nei pazienti ammalati di vasculite (v. sotto) il trattamento con metilprednisolone e. v. (1 g/*die* per 3 giorni) è abitualmente molto efficace (Bolton, 1984). Si ritiene oggi che la glomerulonefrite extracapillare senza depositi immuni nel glomerulo (forma cosiddetta «idiopatica» o «tipo III» o «pauci immune») costituisca una forma di vasculite, che mostra (almeno nella prima fase della malattia) solo un coinvolgimento del glomerulo (Serra *et al.*, 1982). Questi pazienti sono positivi per l'anticorpo ANCA (*Anti-Neutrophil Cytoplasmic Antibody*; v. sotto), quindi hanno di fatto una forma di poliarterite microscopica e debbono essere trattati come i pazienti con vasculite evidente.

Il terzo tipo di glomerulonefrite extracapillare, cioè *con depositi endoglomerulari* d'IgG e complemento, è forse una glomerulonefrite post-infettiva endocapillare o una forma di glomerulonefrite membranoproliferativa (GNMP). Il trattamento non è ancora chiaro (Rees e Cameron, 1990). Di solito si impiega metilprednisolone e. v. a forti dosi, ma non vi è una sicura evidenza che questo trattamento sia efficace. Alcuni clinici impiegano anche la plasmaferesi, e spesso farmaci citotossici. Sono necessari più dati sul trattamento di questo tipo di glomerulonefrite, che è abbastanza rara nei paesi sviluppati, ma è però frequente nei paesi del terzo mondo, ad es. in India (Chugh e Singh, 1990).

Oggi, quasi nessuno impiega più gli anticoagulanti, giacché un trattamento con metilprednisolone o con plasmaferesi è efficace, breve e più sicuro.

Di recente è stato riportato il decorso a lungo termine dei pazienti sopravvissuti alla fase acuta (Heilman *et al.*, 1987; Keller *et al.*, 1989). A 5 anni dall'esordio, il 50-60% sono ancora viventi senza emodialisi, la maggior parte però ha una modesta insufficienza renale cronica. Baldwin *et al.* (1987) hanno descritto alcuni casi di glomerulonefrite extracapillare con un'evoluzione più lenta, con necessità di emodialisi solo 1-8 anni dopo l'esordio (Couser, 1988).

#### Glomerulonefrite mesangioproliferativa

La patogenesi della glomerulonefrite a depositi mesangiali di IgA resta sconosciuta (Emancipator, 1987). Alcuni trattano i casi severi con prednisolone *per os*, sia negli adulti (Kobayashi *et al.*, 1986) che nei bambini (Andreoli e Bergstein, 1988), ma l'efficacia di questo trattamento è ancora controversa. Vi è però un gruppo di malati con IgA mesangiali e lesioni minime alla microscopia ottica che presentano sindrome nefrosica sul piano clinico. Questi malati hanno un decorso identico a quello dei pazienti con nefropatia a lesioni minime, mostrando una buona risposta al trattamento con corticosteroidi, seguita talvolta da recidive (D'Amico *et al.*, 1984; Emancipator, 1987).

#### Glomerulonefrite mesangiocapillare tipo I e II

Dopo alcune indagini controllate (Donadio *et al.*, 1984; Zimmerman *et al.*, 1983; ISKDC, 1982) e non, oggi si ritiene che non vi sia alcuna forma di trattamento efficace in questo tipo di glomerulonefrite. Donadio *et al.* (1984) unitamente a Zimmerman *et al.* (1983) hanno osservato un effetto favorevole con Aspirina® e dipiridamolo, ma il successivo decorso dei malati non ha sostenuto questa conclusione. Tuttavia, questo trattamento è sicuro e quasi privo di effetti collaterali. Nei bambini, uno studio controllato dell'ISKDC (International Study of Kidney Diseases in Children) sul trattamento con prednisolone a forti dosi (60 $mg/m^2$ a giorni alterni), come proposto da West, è stato abbandonato a causa degli effetti collaterali, di cui l'ipertensione era il più frequente, osservati nei bambini trattati ma non nei controlli (Williams, 1991; Pozzi *et al.*, 1988).

#### Nefropatia membranosa

Negli ultimi 10 anni sono stati pubblicati quattro studi controllati in soggetti nefrosici con questa malattia (tab. II). Sfortunatamente vi è ancora una certa confusione. Non è ancora chiaro se i corticosteroidi da soli siano efficaci o meno. Uno studio americano (Coggins *et al.*, 1979) conclude per un'efficacia dei corticosteroidi; uno studio canadese (Cattran *et al.*, 1989) e uno britannico (Cameron, 1990a) dimostrano l'inefficacia degli steroidi. Nel frattempo, uno studio italiano (Ponticelli *et al.*, 1989; Passerini *et al.*, 1988), che impiegava un trattamento più forte e più prolungato alternando un farmaco citotossico (clorambucil)

**TAB. II. RISULTATI DI RECENTI STUDI CONTROLLATI PER IL TRATTAMENTO DELLA GLOMERULOPATIA MEMBRANOSA (GM) IDIOPATICA NEGLI ADULTI NEFROSICI. CONDIZIONE DOPO TRATTAMENTO**

| | *Follow-up* (mesi) | N. dei casi | Remissione | Proteinuria persistente | «Insufficienza renale»[1] | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | n | n | n | n | significatività |
| *Interhospitals U.S.A.* | 26-52 | C 38 | 5[3] | 22 | 11 | $p < 0,05$ |
| prednisolone 8 settimane | | Rx 34 | 7[4] | 25 | 2 | |
| *Canadese*[2] | 48 ± 3 | C 54[2] | 20[5] | 28 | 6(4) | $p > 0,05$ |
| prednisolone 26 settimane | | Rx 54[2] | 23[8] | 24 | 7(3) | |
| *MRC britannico* | 52 ± 6 | C 51 | 7 | 29 | 15(8) | $p > 0,05$ |
| prednisolone 8 settimane | | Rx 52 | 12[7] | 31 | 11(6) | |
| *Italiano* | | C 39 | 7[9] | 28[1] | 4(4) | |
| prednisolone 3 mesi | 60 (mediana) | | | | | $p < 0,05$ |
| clorambucil 3 mesi | | Rx 42 | 23[6] | 18 | 1(1) | |

Per i pazienti deceduti per cause non correlate alla GM sono riportati i dati relativi all'ultimo controllo in vita.
[1] «Insufficienza renale» = creatininemia superiore a 4 mg/dl o 400 μmol/l. Nello studio italiano, nel controllo più recente, 3 pazienti avevano creatininemia di 397, 397, 371 μmol/l. In parentesi vengono indicati i pazienti in trattamento emodialitico o che hanno ricevuto un trapianto; [2] nello studio canadese, sono inclusi solo i dati di 108 pazienti con proteinuria superiore a 3,5 g/24 h; [3] 1 paziente con ricaduta di proteinuria tardiva; [4] 4 pazienti con ricadute; [5] 4 pazienti con ricadute; [6] 7 pazienti con ricadute; [7] 4 pazienti con ricadute; [8] 8 pazienti con ricadute; [9] 5 pazienti con ricadute; C = controlli; Rx = trattati.





Digitized by Google

col prednisolone per sei mesi, ha dimostrato un effetto benefico importante.

Questo regime comporta, naturalmente, degli effetti collaterali, e alcuni clinici sono restii ad impiegarlo in tutti i pazienti nefrosici all'esordio, perché è noto che almeno un 50% dei pazienti nefrosici con nefropatia membranosa guarisce in modo spontaneo, senza trattamento, dopo un decorso da 3 a 10 anni (Radaelli *et al.*, 1988). Si sa inoltre che pazienti con nefropatia membranosa e proteinuria inferiore ai 3-3,5 g/l hanno, in genere, un'evoluzione benigna (v. fig. 2f della voce precedente), per cui non vale la pena di trattarli con farmaci tossici. I bambini (Cameron, 1990b) ed i pazienti con forme di glomerulonefrite membranosa secondaria a farmaci o infezione non vanno trattati; tuttavia va controllato l'edema, con terapia diuretica.

Cosa fare dunque, oggi, nei nefrosici con nefropatia membranosa idiopatica? Alcuni nefrologi preferiscono aspettare per 6-12 mesi (Zucchelli, 1990), tentando di identificare i pazienti con prognosi grave. Sappiamo che, in genere, i malati con una forte proteinuria persistente e quelli con elevazione precoce nella creatininemia hanno una prognosi più grave di quelli che mostrano invece una diminuzione della proteinuria, e una creatininemia normale dopo f-3 anni. Secondo me, al momento sembra più efficace e sicuro aspettare e controllare i pazienti con nefropatia membranosa, mantenendoli per mesi — o forse anni — senza trattamento. Solo indagini controllate paragonanti un trattamento precoce a uno più tardivo potrebbero rispondere a questa domanda. Nei pazienti in cui sembra indicato il trattamento specifico, è ragionevole impiegare il regime utilizzato dagli AA. italiani che sembra il più efficace: cioè prednisolone (0,5 mg/kg/*die*) e clorambucil (0,2 mg/kg/*die*) a mesi alterni per un totale di sei mesi per ogni farmaco. Vi sono dati che confermano che questo trattamento è efficace anche se somministrato alcuni anni dopo l'esordio della malattia (Mathieson *et al.*, f988). Alcuni studi hanno anche dimostrato una buona risposta al trattamento con solo prednisolone, in casi avanzati di insufficienza renale (Short *et al.*, 1987; Williams e Bone, 1989).

**Glomerulosclerosi segmentale focale**

Il problema principale è ancora il gruppo (70% dei bambini e 80% degli adulti con glomerulosclerosi segmentale focale, GSF) con sindrome nefrosica e resistenza al trattamento con corticosteroidi (Banfi *et al.*, 1988). Sembra che né la ciclofosfamide né il clorambucil siano in grado di arrestare l'evoluzione verso l'insufficienza renale, che si osserva nella maggior parte dei pazienti di questo gruppo (dati non pubblicati, fSKDC). Tuttavia, nel nostro reparto abbiamo visto una risposta in questo gruppo sia alla ciclofosfamide, che alla vincristina, nei bambini con GSF steroidoresistente (Trompeter, 1988). Dunque nei casi gravi impieghiamo ciclofosfamide per 8 settimane con un dosaggio di 3 mg/kg/*die*.

Di recente, è stato discusso il ruolo nella GSF della ciclosporina (v. sopra, tab. f), (Meyrier, 1989). Sembra che i risultati con ciclosporina, in genere, siano simili a quelli ottenuti con corticosteroidi. Cioè, di solito, i nefrosici steroidoresistenti non risentono nemmeno del trattamento con ciclosporina. Tuttavia, alcuni pazienti resistenti al trattamento con corticosteroidi e ciclofosfamide, possono dimostrare una risposta completa alla ciclosporina (Meyrier, 1989). Nei casi di resistenza si può rilevare quasi sempre una *diminuzione della quantità della proteinuria*, che può essere molto utile per controllare un edema severo (v. sopra). Si deve, però, tener conto del fatto che questa diminuzione è secondaria ad una riduzione del flusso glomerulare, e che raramente si può sviluppare un'insufficienza renale acuta, talvolta irreversibile, sotto trattamento con ciclosporina (Praga *et al.*, 1988). Non sappiamo ancora se la fibrosi interstiziale rappresenti un problema di grande rilevanza qualora si impieghi un dosaggio massimo di ciclosporina di 5 mg/kg/*die* (controllare il livello del farmaco nel plasma). Dopo un anno di trattamento, si trova abitualmente solo una fibrosi modesta o assente (Meyrier, f989).

## FORME SPECIALI DI GLOMERULONEFRITE

**Glomerulonefrite nel rene trapiantato**

Nel f982 e nel f988 sono state pubblicate due rassegne su questo punto (Cameron; Mathew). Di recente è divenuto chiaro che il solo tipo di glomerulonefrite che abitualmente recidiva nel rene trapiantato distruggendolo è la *sclerosi segmentale focale con evoluzione rapidissima* (cosiddetta forma «maligna») (Senguttuvan *et al.*, 1990). Le recidive sono molto più frequenti nei bambini che mostravano una rapida evoluzione, con resistenza a tutti i farmaci ed espansione del mesangio. Sfortunatamente, le recidive delle diverse forme di glomerulonefrite sono altrettanto frequenti con la ciclosporina che con l'azatioprina.

**La nefropatia da AIDS**

L'epidemia di AIDS in tutto il mondo ha causato numerosi effetti su vari organi. Nel rene, si può rilevare una glomerulopatia; quasi tutti i casi sono stati osservati nella costa orientale degli Stati Uniti, Miami (Pardo *et al.*, f984; Strauss *et al.*, 1989), New York (D'Agati *et al.*, f989), Brooklyn (Rao *et al.*, f987) etc., e nei soggetti caucasici e non degli Stati Uniti e in Europa.

Il quadro clinico è caratterizzato da una sindrome nefrosica con proteinuria massiva e rapida evoluzione sfavorevole verso l'insufficienza renale terminale. Il principale quadro istologico nel glomerulo è una *sclerosi segmentale e focale* (Pardo *et al.*, 1984; Rao *et al.*, 1987; D'Agati *et al.*, f989). Inoltre non è possibile separare questo quadro da quello visto nei tossicodipendenti che fanno uso di eroina impura e. v.; va sottolineato che pazienti affetti da AIDS sono spesso anche tossicodipendenti. Tuttavia, questa glomerulosclerosi si osserva più spesso nei bambini di madri affette da AIDS (Strauss, 1989) e negli emofilici che hanno usato crioprecipitati (fattore VIII) contaminati con il virus HIV. È accettato dunque che questa forma di glomerulopatia sia una complicazione del virus. Vi è anche una nefrite interstiziale e si può osservare in alcuni pazienti un quadro di glomerulopatia postinfettiva, con depositi immuni mesangiali e gli altri quadri istologici caratteristici di questa forma. Ciò non è sorprendente, perché questi pazienti possono essere affetti da molteplici patologie causate da diversi microrganismi. Nessun trattamento sembra efficace in questa terribile malattia (Gardenswartz e Tapper, 1988).

**Nefrite della porpora di Schönlein-Henoch**

Nonostante molti studi, la patogenesi della nefrite di questa vasculite associata con IgA rimane sconosciuta (Knight, 1990). Qualche A. (Fogazzi *et al.*, f989) ritiene che negli adulti la prognosi sia peggiore che nei bambini (tab. fIf). Il trattamento è giustificato solo nei pazienti con forme severe, con insufficienza renale acuta e con reperto anatomopatologico di formazione di semilune epiteliali. Il trattamento è cambiato negli ultimi anni, oggi si impiega abitualmente metilprednisolone e. v. a forti dosi (f g al dì per tre giorni). Alcuni AA. impiegano anche farmaci citotossici e, talvolta, plasmaferesi (Haycock e Cameron, 1987); oggi non si impiegano usualmente anticoagulanti come warfarin. I risultati non sono però molto cambiati; nella maggior





Digitized by Google

**TAB. III. PROGNOSI IN SOGGETTI ADULTI AFFETTI DA PORPORA DI SCHÖNLEIN-HENOCH E NEFRITE**
(sintesi della letteratura fino al 1988, dati non pubblicati inclusi, di Knight e Cameron del *MRC Glomerulonephritis Registry*)

| N. casi | N. casi con nefrite | Decorso | | |
|---|---|---|---|---|
| | | guarigione completa | malattia persistente | Insufficienza renale terminale o morte |
| 257 | 236 | 98 (45%) | 82 (37%) | 40 (18%) |

parte dei casi, si osserva un miglioramento della funzione renale, nonostante la gravità del quadro istologico. Sono pochissimi i casi di porpora di Schönlein-Henoch che sviluppano un'insufficienza renale cronica. Nel rene trapiantato, si può osservare una recidiva della malattia clinicamente evidente, soprattutto nei pazienti con rene proveniente da un donatore vivente imparentato (Nast *et al.*, 1987; Hasegawa *et al.*, 1989).

**Vasculite e glomerulonefrite**

*Patogenesi*

Nella patogenesi della vasculite, il progresso principale è rappresentato dalla scoperta degli anticorpi anti-polimorfonucleati, i cosiddetti «ANCA» (*Anti-Neutrophil Cytoplasmic Antibody*) (Woude *et al.*, 1985; Savage *et al.*, 1987). Questi anticorpi sono pressoché specifici per le varie forme di vasculite, come la poliarterite microscopica, la sindrome di Churg-Strauss e la granulomatosi di Wegener (Savage *et al.*, 1987). Inoltre, è molto importante l'osservazione che pazienti con aspetti istologici di glomerulonefrite extracapillare e formazione di semilune, ma senza depositi immuni in immunofluorescenza, abbiano quasi tutti degli ANCA positivi; questi dati hanno consolidato l'impressione clinica (Serra *et al.*, 1982; 1985) che questi pazienti abbiano una forma di vasculite, clinicamente limitata ai reni. Non si sa ancora se questi anticorpi siano o meno dannosi; è accertato che possono attivare i polimorfonucleati *in vitro* (Jennette e Falk, 1990), ma l'assenza in questa malattia di IgG o di altre immunoglobuline nei vasi e nei glomeruli sta contro l'ipotesi che gli anticorpi giochino un ruolo cruciale nella patogenesi del danno vascolare. Mi sembra più probabile che il meccanismo principale del danno vascolare coinvolga cellule T dirette contro le cellule endoteliali, con successiva attivazione dei macrofagi.

*Trattamento*

Nei pazienti con insufficienza renale, i risultati con un trattamento più aggressivo sembrano migliori rispetto a pochi anni fa (fig. 6), nonostante che questi pazienti siano spesso anziani e molto fragili (Fuiano *et al.*, 1988). Di solito, si può osservare un recupero della funzione renale nei pazienti in emodialisi, dopo trattamento con metilprednisolone, ciclofosfamide e plasmaferesi. Molti AA. sono convinti che la ciclofosfamide sia più efficace nella fase acuta. Purtroppo a lungo termine questo farmaco è molto tossico sul midollo e sulle gonadi, può indurre perdita di capelli, cistite e può esporre a un elevato rischio di cancro della vescica (Stilwell *et al.*, 1988) e leucemia. Molti AA. preferiscono perciò passare dopo 8-12 settimane alla azatioprina. Al contrario, il gruppo del National Institute of Health (NIH) negli U.S.A. utilizza ciclofosfamide e. v. a dosi elevate (1-3 g) somministrate a intervalli di uno, due o tre mesi, a lungo termine (v. sotto).

Dal momento stesso in cui la sopravvivenza è migliorata, è sorto un nuovo problema: è possibile sospendere il trattamento senza recidiva a lungo termine? Per ora si può solo consigliare di diminuire lentamente il dosaggio, sorvegliando le manifestazioni cliniche di attività (porpora, livello di creatinina elevato, proteinuria, etc.). In assenza di proteinuria, può essere utile la determinazione della VES, che risulta sempre elevata in presenza di proteinuria. Forse la determinazione quantitativa degli ANCA circolanti sarebbe utile, ma mancano molti dati fino ad oggi (Cameron, 1988; Conn, 1989).

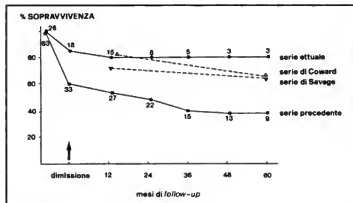
**Crioglobulinemia essenziale**

Tale malattia è dettagliatamente illustrata altrove (Ponticelli *et al.*, 1986) anche se non vi sono novità cliniche di rilievo. Oggi si sa solo che la «proliferazione» endocapillare nel glomerulo in questa malattia è costituita per la maggior parte da un'*infiltrazione* di macrofagi (Ferrario *et al.*, 1985).

Fig. 6. Sopravvivenza dei malati con vasculite dopo trattamento aggressivo. Comparazione dei risultati ottenuti tra il 1981 e il 1987 (*serie attuale*) con quelli ottenuti con trattamento meno aggressivo (*serie precedente*) senza ciclofosfamide ma con plasmaferesi nei casi gravi, secondo Serra *et al.* (1982). Sono anche mostrati i risultati di Coward *et al.* e di Savage, con trattamento aggressivo. (*Da Fiuano et al.*, *1988*).





Digitized by Google

**Lupus eritematoso sistemico (LES)**

*Patogenesi*

La patogenesi del lupus eritematoso rimane ancora sconosciuta. Negli ultimi anni, sono state proposte molte teorie per spiegare la genesi dell'autoimmunità (*Lancet*, editoriali 1985, 1989; Foulis, 1986; Cohen, 1988; Cameron, 1985), ma nessuna è esauriente. Questo problema lascia quindi insoluti punti importantissimi per la evoluzione della risposta immunitaria.

*Istopatologia*

Di recente, è stata accettata la classificazione dell'OMS (tab. IV). Questa classificazione ha codificato alcune precedenti descrizioni come «membranosa» o «proliferativa diffusa». Al tempo stesso, Austin *et al.* (1983) hanno molto valorizzato il significato prognostico degli *indici d'attività e di cronicità* (tab. V) che era già stato sottolineato da osservazioni di Pirani e Morel-Maroger. Questo modo di affrontare il problema è oggi molto seguito, e sembra fornire indicazioni più importanti per la prognosi della malattia renale rispetto alla semplice classificazione del quadro istologico (Austin *et al.*, 1983), anche se non tutti gli AA. sono d'accordo (Schwartz, 1989).

*Decorso*

La sopravvivenza dei pazienti affetti da nefrite lupica è molto migliorata negli anni '80. Oggi, la sopravvivenza globale a 10 anni dalla diagnosi è circa dell'80-90% (Austin *et al.*, 1986; Ponticelli *et al.*, 1987; McLigeyo e Cameron, 1991), senza grandi differenze tra forme gravi e quelle meno attive. Questo miglioramento è senza dubbio correlato ai progressi nel trattamento (v. sotto), anche se vi sono

**TAB. IV. CLASSIFICAZIONE DELLA NEFRITE LUPICA SECONDO L'OMS**

| | |
|---|---|
| I | lesioni minime |
| II | lesioni mesangiali isolate |
| III (a) | glomerulonefrite focale/necrosante |
| (b) | *idem*, ma severa e molto diffusa |
| IV | glomerulonefrite proliferativa diffusa |
| V | glomerulonefrite membranosa |
| VI | nefropatia sclerosante |

**TAB. V. INDICI DI ATTIVITÀ E DI CRONICITÀ NELLA NEFRITE LUPICA**
(da Austin *et al.*, 1983)

| Alterazioni glomerulari | |
|---|---|
| *Indici di attività* | *Indici di cronicità* |
| proliferazione cellulare | glomerulosclerosi |
| necrosi fibrinoide o carioressi | semilune fibrose |
| semilune cellulari | |
| trombosi ialina, *wire loops* (anse a fil di ferro) | |
| infiltrato con polimorfonucleati | |
| **Alterazioni tubulointerstiziali** | |
| *Indici di attività* | *Indici di cronicità* |
| infiltrazione con mononucleati | fibrosi interstiziale |
| | atrofia dei tubuli |
| Necrosi fibrinoide e semilune cellulari | |
| Massimo indice di attività 24, massimo indice di cronicità 12 | |

pochi studi controllati. Un problema emerso di recente riguarda l'alta incidenza di aterosclerosi precoce, con angina e talora infarto, nelle donne di 30-40 anni, dopo un trattamento prolungato per lupus (Correia, 1985). Non si sa ancora esattamente quale sia il ruolo dei corticosteroidi, o della malattia stessa, nella genesi di questa complicazione, che rappresenta la causa maggiore di una elevata mortalità dopo 10 anni dalla diagnosi di LES.

*Trattamento*

Oggi viene scelto un trattamento più aggressivo in presenza di un quadro istologico attivo e grave, inoltre la biopsia renale è obbligatoria prima di trattare un malato con nefrite lupica. Non è stato cambiato, in questi anni, lo schema di trattamento (v. NEFROPATIE MEDICHE, X, 229) e siamo soddisfatti sia della percentuale di sopravvivenza sia della mancanza di effetti collaterali (McLigeyo e Cameron, 1991). Due studi controllati non hanno dimostrato alcun effetto benefico della plasmaferesi, neppure nei casi acuti, con nefrite proliferativa diffusa (Lewis e Lachin, 1987). Nonostante questi dati, molti AA. sono tuttora convinti dell'efficacia di questo trattamento (Leaker *et al.*, 1986).

Infine vi sono alcuni pazienti in fase acuta in cui non si ottiene alcuna risposta col trattamento abituale, basato su metilprednisolone, plasmaferesi e/o citotossici; cosa possiamo fare oggi per questi sfortunati pazienti? Strober *et al.*, hanno trattato alcuni di questi malati con LES severo e resistente, con irradiazione linfoide totale. I risultati sembrano molto buoni a 4 anni (Strober *et al.*, 1985; 1987). Alcuni AA. hanno suggerito, invece, per questi malati un trattamento con ciclosporina (Miescher *et al.*, 1988; Feutren *et al.*, 1987). L'efficacia di questo farmaco nel LES è ancora controversa. Alcuni AA. hanno ottenuto risultati molto soddisfacenti, mentre altri hanno osservato solo alcune risposte favorevoli nella fase acuta della malattia. Al momento, non si hanno dati sufficienti per dirimere questa controversia.

Nel lungo termine, il problema principale è rappresentato dagli effetti collaterali dei farmaci. Studi recenti (Felson e Anderson, 1984; Balow *et al.*, 1984) confermano l'utilità dei citotossici in associazione col prednisolone, soprattutto nei casi gravi di tipo IV della classificazione secondo la OMS. Ma quale farmaco citotossico scegliere, e per quale via somministrarlo? Il gruppo dell'NIH negli Stati Uniti ritiene che la ciclofosfamide sia migliore dell'azatioprina (Austin, 1986). Poiché la ciclofosfamide somministrata quotidianamente *per os* è tossica sulla vescica (v. sopra), per il possibile sviluppo a lungo termine di telangettasia e neoplasia, non è possibile impiegarla per più di 8-12 settimane. Noi preferiamo dopo questo periodo sostituirla con l'azatioprina. Il gruppo dell'NIH, al contrario, preferisce impiegare dosaggi elevati di ciclofosfamide e. v. ogni mese per alcuni mesi, e poi ogni due o tre mesi. Questi AA. ritengono che con questa modalità di somministrazione sia possibile evitare gli effetti tossici sulla vescica. Sono però necessari molti anni di osservazione per poter essere rassicurati su questo punto, e per sapere quale è il rischio di cancro in altri tessuti.

Clark *et al.* (1989) hanno utilizzato nella nefrite lupica l'ac. eicosapentanoico (EPA), cioè ω-3 acidi grassi che si trovano in grande quantità nell'olio di pesce. Nei topi NZB/W con LES, questo farmaco si è dimostrato in grado di ridurre il livello di anticorpi anti-DNA, con miglioramento della nefrite. Nei pazienti con nefrite lupica, alte dosi (6-18 *g/die*), possono sostituire gli acidi grassi della membrana plasmatica delle piastrine, che dimostrano una minore capacità aggregante. Inoltre, la sintesi di prosta-



Digitized by Google

glandine è dirottata verso la serie 3, ad es. $TBXA_3$, che non è pro-aggregante come il $TXA_2$, e infine è inibita la sintesi del leucotriene B4 e dell'IL-1. Questi acidi grassi sono forse capaci di ridurre l'incidenza di aterosclerosi nel LES. Sembra, dunque, che un supplemento con olio di pesce possa essere utile in questa malattia.

**Amiloidosi**

Purtroppo, non è possibile riportare alcun progresso nel trattamento dell'amiloidosi. L'uso di DMSO (dimetilsolfossido) è pressoché impossibile a causa del terribile odore agliaceo emesso dai pazienti sotto questo trattamento. Comunque, questo farmaco potrebbe al massimo migliorare le forme secondarie della malattia e non la malattia primitiva. La colchicina sembra efficace nel prevenire la comparsa di proteinuria nella FMF (*Familial Mediterranean Fever*), ma finora non è stata fatta alcuna indagine controllata (van Rijswich e Hem, 1991).

**Nefropatia diabetica**

Dopo 15-25 anni (media 19 anni), il 40% dei giovani diabetici di tipo 1 sviluppano proteinuria, e 9-10 anni più tardi (24-35 anni dall'esordio del diabete) quasi tutti questi pazienti sono in insufficienza renale terminale (Christiansen, 1985; Krolewski *et al.*, 1985). Non è ancora noto perché solo il 40%, e non gli altri pazienti, sviluppino la nefropatia. Prima della comparsa della proteinuria evidente, vi è una fase variabile di *microalbuminuria*, cioè valori di albuminuria sopra la norma (12 μg/min), ma non abbastanza elevati da risultare evidenti nei controlli con Albustix® (350 μg/min). Durante questa fase di microalbuminuria, vi è una iperfiltrazione, cioè un flusso glomerulare sopra il normale, che dipende dall'iperglicemia (Christiansen, 1985).

Nel testo del 1981, scrissi «non esiste ancora un trattamento capace di modificare il quadro o l'evoluzione della nefropatia diabetica». Purtroppo, è ancora vero. Ciononostante, vi sono alcuni piccoli spiragli di speranza. Una speranza è riposta su un rigoroso controllo della glicemia nella fase microalbuminurica, ad es. con insulina somministrata per infusione continua sottocutanea, mediante pompa a siringa (Viberti *et al.*, 1979). Questo rigoroso controllo può diminuire sia l'elevato flusso glomerulare che la microalbuminuria. Nel lungo termine, questo controllo rigoroso potrebbe anche prevenire lo sviluppo della proteinuria clinicamente evidente, e dunque l'evoluzione verso l'insufficienza renale. Sono però necessari almeno 10 anni prima di sapere se questo presupposto sia vero o meno. Quando la proteinuria è clinicamente evidente, è già troppo tardi; un miglior controllo dell'iperglicemia non porta ad alcun effetto sulla entità dell'albuminuria in questa fase (Bending *et al.*, 1986).

Un'altra speranza è riposta sugli inibitori dell'enzima di conversione. Nella nefropatia diabetica, questi farmaci possono ridurre una proteinuria evidente, con o senza una contemporanea riduzione nella pressione arteriosa (Taguma *et al.*, 1985; Parving *et al.*, 1989). Quest'effetto emodinamico potrebbe proteggere i glomeruli dall'ipertensione intraglomerulare, che è forse uno dei più importanti fattori patogenetici nell'evoluzione della glomerulosclerosi (Parving *et al.*, 1988; Hommel *et al.*, 1986; Marre *et al.*, 1987).

La terapia del paziente diabetico con insufficienza renale terminale resta ancor difficile e deludente. Sebbene in diabetici senza arteriopatia (Najarian *et al.*, 1989) sia possibile ottenere risultati simili a quelli dei non diabetici, la prognosi per il gruppo *in toto* è molto peggiore. Generalmente, il 50% dei diabetici, sia giovani che anziani, sottoposti a trattamento per insufficienza renale terminale, muoiono entro 3-5 anni (Cameron, 1991; Brunner, 1989). La causa principale di morte sono le malattie vascolari (Brunner, 1989). Inoltre, molti diabetici trapiantati o in emodialisi diventano ciechi, o presentano le complicanze vascolari a carico degli arti inferiori fino all'amputazione. È chiaro che solo la prevenzione della malattia diabetica *in toto* potrebbe essere efficace contro questa implacabile malattia. Il trapianto di pancreas ci fa sperare in una sua possibile cura. Ma al momento attuale è ancora troppo pericoloso per eseguirlo in tutti questi malati diabetici; d'altra parte un trapianto di isole di Langerhans non è ancora possibile. Speriamo che questo stato attuale cambi rapidamente (Pinto e Viberti, 1991).

**Bibliografia**


PATOGENESI DELLA GLOMERULONEFRITE

Alexopoulos E. *et al.*, *Am. J. Kidney Dis.*, 1989, **13**, 404.
Border W. A. *et al.*, *J. Clin. Invest.*, 1982, **69**, 451.
Burns A. *et al.*, *Nephrol. Dial. Transpl.*, 1991 (abstract, in corso di stampa).
Clark A. G. B., *Ped. Nephrol.*, 1989, **3**, C71.
D'Amico G., *Nephrol. Dial. Transpl.*, 1988, **3**, 596.
Gallo G. R. *et al.*, *Lab. Invest.*, 1983, **48**, 353.
Haensch G. M. *et al.*, *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 1989, **88**, 139.
Holdsworth S. R. *et al.*, *Contr. Nephrol.*, 1985, **45**, 105.
Johnson R. J. *et al.*, *J. Clin. Invest.*, 1988, **82**, 1225.
Kerjaschki D., Miettinen A., Farquhar M. G., *J. Exp. Med.*, 1987, **166**, 109.
Makino H., Lelongot B., Kanwar Y. S., *Kidney Int.*, 1988, **34**, 209.
Nolasco F. *et al.*, *Kidney Int.*, 1987, **31**, 1160.
Salant D. J. *et al.*, *Kidney Int.*, 1989, **35**, 976.
Shah S. V., *Kidney Int.*, 1989, **35**, 1093.

PATOGENESI DELLA GLOMERULOPATIA A LESIONI MINIME

Schnaper H. W., *Ped. Nephrol.*, 1989, **3**, 101.
Taube D., Williams D. G., in Cameron J. S., Glassock R. J. eds., *The Nephrotic Syndrome*, 1988, Marcel Dekker, New York, p. 193.

QUADRI ISTOPATOLOGICI

Churg J., Sobin L. H., *Renal Disease. Classification and Atlas of Glomerular Diseases*, Igaku Shoin, Tokyo, 1982.

MALATTIA DA CATENE LEGGERE

Confalonieri R. *et al.*, *Nephrol. Dial. Transpl.*, 1987, **2**, 150.
Gallo G. R. *et al.*, *Am. J. Pathol.*, 1980, **99**, 621.
Ganeval D. *et al.*, *Kidney Int.*, 1984, **26**, 1.
Minetti L., D'Amico G., Ponticelli C., *The Kidney in Plasma Cell Dyscrasias*, 1988, Kluwer, Dordrecht.

MALATTIA CON MEMBRANA SOTTILE

Abe S. *et al.*, *J. Clin. Pathol.*, 1987, **40**, 318.
Dische F. E. *et al.*, *Am. J. Nephrol.*, 1985, **5**, 103.
Dische F. E. *et al.*, *Nephrol. Dial. Transpl.*, 1991 (abstract, in corso di stampa).
Tiebosch A. T. G. M. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1989, **320**, 14.

SINDROME DI ALPORT

Barker O. F. *et al.*, *Science*, 1990, **248**, 1224.
Brunner H. *et al.*, *Kidney Int.*, 1988, **34**, 507.
Fleming S. J. *et al.*, *Transplantation*, 1988, **46**, 857.
Flinter F. A. *et al.*, *Ped. Nephrol.*, 1987, **1**, 438.
Flinter F. A. *et al.*, *Lancet*, 1988, **11**, 1005.
Flinter F. A., Abbs S., Bobrow M., *Genomics*, 1989, **4**, 335.
Grunfeld J-P., *Kidney Int.*, 1985, **27**, 83.
Kashtan C. E. *et al.*, *Kidney Int.*, 1989, **36**, 669.
v. d. Heuvel L. P. J. W., *Ped. Nephrol.*, 1989, **3**, 406.

SINDROME NEFROSICA

Cameron J. S., Wass V., Ogg C. S., in Cameron J. S., Glassock R. J. eds., *The Nephrotic Syndrome*, 1988, Decker, New York, p. 849.
Don B. R., Kaysen G. A., Schambelan M., *Kidney Int.*, 1989, **27**, S163.
Fabri A. *et al.*, *Giorn. Ital. Nefrol.*, 1989, **6**, 197.
Firth J. D., Raine A. E. G., Ledingham J. G. G., *Clin. Sci.*, 1989, **76**, 387.






Digitized by Google

Geers *et al.*, *Nephron*, 1984, **38**, 170.
Golper T. A. *et al.*, *Am. J. Kidney Dis.*, 1989, **13**, 312.
Heeg J. E. *et al.*, *Kidney Int.*, 1987, **32**, 78; 1989, **36**, 272.
Ichikawa I. *et al.*, *J. Clin. Invest.*, 1983, **71**, 91.
Kaysen G. A., *Am. J. Kidney Dis.*, 1988, **12**, 461.
Mansy H. *et al.*, *Clin. Sci.*, 1989, **77**, 445.
Rabelink A. J. *et al.*, *Lancet*, 1988, **II**, 1335.
Taguma Y. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1985, **313**, 1617.
Vriesendorp R. *et al.*, *Am. J. Nephrol.*, 1985, **5**, 236.

DECORSO E TRATTAMENTO DELLE DIVERSE FORME DI GLOMERULONEFRITE

*Nefropatio o lesioni minime*

A. P. N., *Arch. Dis. Child.*, 1987, **62**, 1102.
A. P. N., *Lancet*, 1988, **1**, 380.
Choonara I. A., Heney D., Meadow S. R., *Arch. Dis. Child.*, 1989, **64**, 610.
Imbasciati E. *et al.*, *Br. Med. J.*, 1985, **291**, 1305.
Imbasciati E. *et al.*, *Giorn. Ital. Nefrol.*, 1988, **5**, 1.
La Manna A. *et al.*, *Child. Nephrol. Urol.*, 1988-9, **9**, 200.
Lewis M. A. *et al.*, *Lancet*, 1989, **1**, 255.
Meyrier A., *Springer Sem. Immunopathol.*, 1987, **9**, 441.
Meyrier A., *Nephrol. Dial. Transpl.*, 1989, **4**, 923.
Niaudet P. *et al.*, *Ped. Nephrol.*, 1987, **1**, 566.
Praga M. *et al.*, *Ann. Intern. Med.*, 1987, **107**, 786.
Trompeter R. S. *et al.*, *Lancet*, 1985, **1**, 368.
Warshaw B. L., Hymes L. C., *Pediatrics*, 1989, **83**, 694.

*Glomerulonefrite endocapillare diffusa*

Clark G. *et al.*, *Ped. Nephrol.*, 1988, **2**, 381.
Rodriguez Iturbe B., in Schrier R. W., Gottschalk C. W. eds., *Strauss and Welt's Diseases of the Kidney*, 1988, Little Brown, Boston, p. 1929.

*Glomerulonefrite con esteso formazione di semilune*

Atkins R. C., Thomson N. P., in *Strauss and Welt's Diseases of the Kidney*, 1988, Little Brown, Boston, p. 1903.
Baldwin D. S. *et al.*, *Kidney Int.*, 1987, **31**, 790.
Bolton K., in Robinson R. R. ed., *Nephrology*, 1984, Springer, New York, p. 1464.
Cameron J. S., in Suki W. N., Massry S. G. eds., *Therapy of Renal Diseases and Related Disorders*, 1984, Martinus Nyhoff, Boston, p. 209.
Chugh K., Singh, in Cameron J. S. *et al.* eds., *Oxford Textbook of Clinical Nephrology*, 1992, Oxford University Press, Oxford.
Couser W. G., *Am. J. Kidney Dis.*, 1988, **11**, 449.
Heilman R. L. *et al.*, *Am. J. Kidney Dis.*, 1987, 9, 98.
Keller F. *et al.*, *Clin. Nephrol.*, 1989, **31**, 190.
Pusey C. D., Lockwood C. M., in Robinson R. R. ed., *Nephrology*, 1984, Springer, New York, p. 1474.
Rees A. J., Cameron J. S., in Cameron J. S. *et al.* eds., *Oxford Textbook of Clinical Nephrology*, 1992, Oxford University Press, Oxford.

*Glomerulonefrite mesangioproliferativa con IgA*

Andreoli S., Bergstein J. M., *Ped. Nephrol.*, 1988, **3**, 248.
D'Amico G. *et al.* eds., *Contr. Nephrol.*, 1984, vol. **40**.
Emancipator S., *Kidney Int.*, 1990, **38**, 1216.
Kobayashi Y. *et al.*, *Q. J. Med.*, 1986, 935.
Schena F. P., in Cameron J. S. *et al.* eds., *Oxford Textbook of Clinical Nephrology*, 1992, Oxford University Press, Oxford.

*Glomerulonefrite mesangiocapillare tipo I e II*

Donadio J. D. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1984, **310**, 1421.
Ferrario F. *et al.*, *Giorn. Ital. Nefrol.*, 1988, **5**, 49.
I.S.K.D.C., *Kidney Int.*, 1982, **21**, 150 (abstract).
Pozzi C. *et al.*, *Giorn. Ital. Nefrol.*, 1988, **5**, 41.
Williams D. G., in Cameron J. S. *et al.* eds., *Oxford Textbook of Clinical Nephrology*, 1992, Oxford University Press, Oxford.
Zimmerman S. W. *et al.*, *Am. J. Med.*, 1983, **75**, 920.

*Nefropatia membranosa*

Cameron J. S. *et al.*, *Q. J. Med.*, 1990a, **74**, 133.
Cameron J. S., *Ped. Nephrol.*, 1990b, **4**, 193.
Cattran *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1989, **320**, 210.
Coggins C. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1979, **301**, 29.
Mathieson P. W. *et al.*, *Lancet*, 1988, **II**, 869.
Passerini P. *et al.*, *Giorn. Ital. Nefrol.*, 1988, **5**, 23.
Ponticelli C. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1984, **310**, 946.
Ponticelli C. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1989, **320**, 8.
Radaelli L. *et al.*, *Giorn. Ital. Nefrol.*, 1988, **5**, 17.
Short C. D. *et al.*, *Q. J. Med.*, 1987, **65**, 929.
Williams P. S., Bone J. M., *Nephrol. Dial. Transpl.*, 1989, **4**, 181.
Zucchelli P., in Cameron J. S. *et al.* eds., *Oxford Textbook of Clinical Nephrology*, 1992, Oxford University Press, Oxford.

*Glomerulosclerosi segmentale focale*

Banfi G. *et al.*, *Giorn. Ital. Nefrol.*, 1988, **5**, 6.
Meyrier A., *Nephrol. Dial. Transpl.*, 1989, **4**, 923.
Praga M. *et al.*, *Ann. Intern. Med.*, 1988, **107**, 786.
Trompeter R. M., in Murakami K. *et al.* eds., *Pediatric Nephrology*, 1988, Kluwer, Dordrecht, p. 363.

FORME SPECIALI DI GLOMERULONEFRITE

*Glomerulonefrite nel rene trapiantato*

Cameron J. S., *Transplantation*, 1982, **34**, 237.
Mathew T. H., in Cameron J. S., Glassock R. J. eds., *The Nephrotic Syndrome*, 1988, Marcel Dekker, New York, p. 805.
Mathew T. H., *Am. J. Kidney Dis.*, 1988, **12**, 85.
Senguttuvan P. *et al.*, *Ped. Nephrol.*, 1990, **4**, 21.

*Nefropatia do AIDS*

D'Agati V. *et al.*, *Kidney Int.*, 1989, **35**, 1358.
Gardenswartz M. H., Tapper M. L., in Schrier R. W., Gottschalk C. W., eds., *Strauss and Welt's Diseases of the Kidney*, 1988, Little Brown, Boston, p. 2615.
Pardo V. *et al.*, *Ann. Intern. Med.*, 1984, **101**, 429.
Rao T. K. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1987, **316**, 1062.
Strauss J. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1989, **321**, 625.

NEFRITE DELLA PORPORA DI SCHÖNLEIN-HENOCH

Fogazzi G. B. *et al.*, *Clin. Nephrol.*, 1989, **31**, 60.
Hasegawa A. *et al.*, *Transpl. Proc.*, 1989, **21**, 2130.
Haycock G. B., Cameron J. S., in Glassock R. J. ed., *Current Therapy in Nephrology and Hypertension*, 1987, Brian Decker, Montreal, pp. 129-130.
Knight J. F., *Ped. Nephrol.*, 1990, **4**, 533.
Nast C. C. *et al.*, *Am. J. Kidney Dis.*, 1987, **9**, 39.
Yoshioka K. *et al.*, *Clin. Nephrol.*, 1989, **32**, 107.

VASCULITE E GLOMERULONEFRITE

*Patogenesi*

Jennette J. C., Falk R. J., *Am. J. Kidney Dis.*, 1990, **15**, 517.
Nolasco F. *et al.*, *Kidney Int.*, 1987, **31**, 1110.
Savage C. O. S. *et al.*, *Lancet*, 1987, **1**, 1389.
Serra A. *et al.*, *Q. J. Med.*, 1982, **53**, 181.
Serra A., Cameron J. S., *Sem. Nephrol.*, 1985, **5**, 15.
Woude F. J. *et al.*, *Lancet*, 1985, **I**, 425.

*Decorso e trattamento*

Balow J. E., *Kidney Int.*, 1985, **27**, 954.
Cameron J. S., *Ped. Nephrol.*, 1988, **2**, 490.
Conn D. L., *Mayo Clin. Proc.*, 1989, **64**, 535.
Fiuano G. *et al.*, *Nephrol. Dial. Transpl.*, 1988, **3**, 383.
Stilwell T. J. *et al.*, *Arthritis Rheum.*, 1988, **31**, 465.

CRIOGLOBULINEMIA ESSENZIALE

Ferrario F. *et al.*, *Kidney Int.*, 1985, **28**, 513.
Ponticelli C., Minetti L., D'Amico G. eds., *Antiglobulins, Cryoglobulins and Glomerulonephritis*, 1986, Martinus Nyhoff, Dordrecht.

LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO (LES)

*Patogenesi*

Cameron J. S., *Giorn. Ital. Nefrol.*, 1984, **1**, 63.
Cohen I. R., *Sci. Am.*, 1988, **258**, 34.
Correia P. *et al.*, *Br. Med. J.*, 1985, **290**, 126.
Foulis A. K., *J. Pathol.*, 1986, **150**, 5.
*Lancet*, editorial, 1985, **II**, 78.
*Lancet*, editorial, 1989, **1**, 649.
Wallace D. J., Dubois E. L., *Dubois' Systemic Lupus Erythematosus*, 1987, Lea & Febiger, Philadelphia.

*Istopatologia*

Austin H. A. *et al.*, *Am. J. Med.*, 1983, **75**, 382.
Schwartz M. M. *et al.*, *Kidney Int.*, 1989, **36**, 891.

*Decorso*

Austin H. A. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1986, **314**, 614.
Correia P. *et al.*, *Br. Med. J.*, 1985, **290**, 126.
McLigeyo S., Cameron J. S., 1992, in corso di stampa.
Ponticelli C. *et al.*, *Clin. Nephrol.*, 1987, **28**, 263.

*Trattamento*

Austin H. A. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1986, **314**, 614.
Balow J. E. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1984, **311**, 491.
Cameron J. S., *Ped. Nephrol.*, 1989, **3**, 350.
Clark W. F. *et al.*, *Kidney Int.*, 1989, **36**, 653.
Felson D. T., Anderson J., *N. Engl. J. Med.*, 1984, **311**, 1528.
Feutren *et al.*, *J. Pediatr.*, 1987, **111**, 1063.




Digitized by Google

Leaker B. *et al.*, *Clin. Nephrol.*, 1986, **25**, 236.
Lewis E., Lachin J., *Kidney Int.*, 1987, **31**, 208 (abstract).
Mieschcr P. A. *et al.*, *Transpl. Proc.*, 1988, **20**, 224.
Strober S. *et al.*, *Ann. Intern. Med.*, 1985, **102**, 450; 1987, **107**, 690.

AMILOIDOSI

van Rijswich J., v. d. Hem G., in Cameron J. S. *et al.* eds., *Oxford Textbook of Clinical Nephrology*, 1992, Oxford University Press, Oxford.

NEFROPATIA DIABETICA

Bending J. J. *et al.*, *Br. Med. J.*, 1986, **292**, 83.
Brunner F., *J. Diabet. Compl.*, 1989, **3**, 127.
Borch-Johnsen K. *et al.*, *Diabetic Med.*, 1985, **4**, 201, 211.
Cameron J. S., *J. Diabet. Compl.*, 1992, in corso di stampa.
Christiansen J. S., *Diabetic Med.*, 1985, **2**, 235.
Hommel E. *et al.*, *Br. Med. J.*, 1986, **293**, 467.
Krolewski A. S. *et al.*, *Am. J. Med.*, 1985, **78**, 785.
Marre M. *et al.*, *Br. Med. J.*, 1987, **294**, 1448.
Najarian J. S. *et al.*, *Transplantation*, 1989, **47**, 106.
Parving H. H. *et al.*, *Lancet*, 1983, **I**, 1175.
Parving H. H. *et al.*, *Br. Med. J.*, 1989, **299**, 533.
Pinto J., Viberti G. F., in Cameron J. S. *et al.* eds., *Oxford Textbook of Clinical Nephrology*, 1992, Oxford University Press, Oxford.
Taguma Y. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1985, **313**, 1617.
Viberti G. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1979, **300**, 638.

Si ringrazia il Prof. Claudio Ponticelli per la collaborazione nella preparazione del manoscritto.

J. STEWART CAMERON

## NEFROPATIE INTERSTIZIALI (X, 282)

SOMMARIO



### Generalità

Le nefropatie interstiziali sono caratterizzate dalla presenza nell'interstizio di una combinazione di infiltrazione da parte di cellule infiammatorie, di edema e di fibrosi (Heptinstall, 1983).

In questi ultimi anni l'istologia dell'interstizio renale è stata meglio definita, mentre le funzioni dei componenti dell'interstizio sono tuttora solo imperfettamente conosciute (Tisher e Madsen, 1988).

L'interstizio renale è costituito, oltre che da cellule, da una matrice extracellulare di tessuto lasso, ricco di glicosaminoglicani solforati e non solforati. L'interstizio rappresenta dal 7 al 37% circa del volume corticale e quasi il 40% del tessuto midollare.

Le cellule presenti nell'interstizio corticale sono di 2 tipi: il tipo I che rassomiglia ai fibroblasti e che è capace di secernere collageno e fibrille reticolari; il tipo II costituito da elementi mononucleati linfocito-simili, di derivazione e funzioni ignote.

Nell'interstizio midollare vi sono 3 tipi di cellule: tipo I (elementi carichi di lipidi che posseggono probabilmente funzioni di sostegno), tipo II (linfocito-simili, probabilmente dotati di attività fagocitaria), tipo III (periciti a funzione ignota).

Alle incertezze sulle funzioni specifiche delle cellule interstiziali renali, corrispondono le incertezze nosografiche tuttora presenti nella trattatistica, ove taluno (Schrier e Gottschalk, 1988) giunge a collocare le nefriti interstiziali acute nella parte dedicata all'insufficienza renale acuta, mentre le nefriti interstiziali croniche trovano posto in una diversa parte, accanto alle glomerulonefriti croniche.

Vi è invece largo consenso nel ritenere che in molti casi di nefropatie interstiziali siano operanti meccanismi immunitari e soprattutto quelli propri della immunità cellulo-mediata e diversi modelli sperimentali sono stati studiati (Wilson, 1989). L'antigene responsabile, captato, «processato» ed esposto sulla superficie dei macrofagi verrebbe riconosciuto dai linfociti T con la indispensabile cooperazione delle molecole di classe II del sistema HLA (in particolare, secondo Cheng *et al.*, 1989, HLA-DR). Si libererebbero così linfochine capaci di agire attivando i meccanismi della immunità cellulo-mediata e producendo sostanze tossiche, come il «fattore di necrosi tumorale» da parte dei macrofagi attivati e la «proteina basica maggiore» da parte degli eosinofili, spesso presenti negli infiltrati interstiziali (Ten *et al.*, 1988).

L'importanza degli eosinofili è confermata dalla osservazione che nel sedimento urinario colorato con opportune metodiche, come quella di Hensel, essi sono presenti assai spesso in corso di nefrite interstiziale acuta da farmaci, mentre sono assenti in corso di glomerulonefrite acuta, di glomerulonefrite rapidamente progressiva, di prostatite e di ostruzioni urinarie (Nolan e Kelleher, 1988).

Va anche ricordato che le modificazioni delle funzioni tubulari e glomerulari sono più strettamente correlabili alle lesioni interstiziali che a quelle glomerulari; del resto il quadro della nefrite interstiziale si sviluppa spesso su precedenti lesioni glomerulari e vascolari, finendo per caratterizzare molte forme di nefropatia in stadio terminale (Neilson, 1989).

### Nefriti interstiziali acute

*Introduzione*

Le nefriti interstiziali acute, originariamente descritte come infettive, sono oggi assai più spesso secondarie all'uso degli antibiotici, così come anche di altri farmaci tra cui alcuni, come l'allopurinolo, la cimetidina e gli antireumatici non steroidei, individuati come causa di nefrite interstiziale acuta in questi ultimi anni. In aggiunta alle cause infettive e da farmaci vengono oggi descritte anche nefriti interstiziali acute idiopatiche (tab. VI).

Oltre a questa molteplicità di cause un altro elemento di incertezza è causato dal fatto che, anche se viene effettuata

**TAB. VI. CLASSIFICAZIONE DELLE NEFRITI INTERSTIZIALI ACUTE**
(da Ten *et al.*, 1988)

| |
|---|
| **Da farmaci** |
| Antibiotici beta-lattamici |
| Rifampicina e altri antibiotici |
| Sulfamidici |
| Composti sulfidrilici (per es. captopril) |
| Antiflogistici non steroidei e analgesici |
| Antiepilettici |
| Cimetidina, allopurinolo |
| Metildopa, interferone |
| **Infettive** |
| Protozoi: toxoplasmosi |
| Batteri: difterite, streptococcosi, brucellosi, leptospirosi, legionellosi, micoplasmosi |
| Rickettsie: febbre delle montagne rocciose |
| Virus: citomegalovirus, Epstein-Barr, Hantaan*, altri |
| **Idiopatiche** |
| Sindrome nefrite tubulointerstiziale-uveite |
| Sarcoidosi |
| Malattia anti-membrana basale tubulare |

* Agente etiologico della cosiddetta «nefropatia endemica dei Balcani» o «febbre emorragica con sindrome renale» (v. FEBBRI EMORRAGICHE VIRALI*; HANTAAN VIRUS, MALATTIA DA*) (Eknoyan, 1988b).

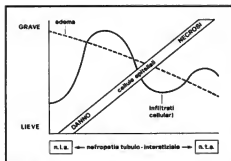



Fig. 7. Rappresentazione schematica dello spettro delle alterazioni istobioptiche rilevabili in caso di nefrite interstiziale acuta (n.i.a.) e di necrosi tubulare acuta (n.t.a.). (*Da G. Eknoyan, 1988a, modificata e ridisegnata*).

una biopsia renale, è spesso difficile differenziare le lesioni della nefrite interstiziale acuta da quelle della necrosi tubulare acuta, entrambe possibili cause di insufficienza renale acuta da farmaci o da agenti infettivi. L'elemento istologico differenziale più importante è costituito dalla entità dell'edema interstiziale che è maggiore nella nefrite interstiziale acuta, mentre il danno delle cellule tubulari prevale nella necrosi tubulare acuta. Tuttavia quest'ultima è presente anche nella nefrite interstiziale acuta che viene spesso definita come nefrite tubulo-interstiziale acuta e i cui confini, pertanto, vengono sovrapposti a quelli della necrosi tubulare acuta (Eknoyan, 1988a), come è rappresentato nella fig. 7.

Un utile elemento differenziale sembra essere la scintigrafia renale al gallio. Linton *et al.* (1985) hanno osservato che il $^{67}$Ga, captato dai reni, a distanza di 48 h dalla iniezione, in maniera intensa e diffusa in caso di nefrite interstiziale acuta da farmaci dimostrata con biopsia, non viene captato, invece, in caso di necrosi tubulare acuta.

*Nefriti interstiziali acute da farmaci*

*Allopurinolo.* – Il farmaco può essere causa di nefriti acute tubulo-interstiziali talora con reazione granulomatosa e di impegno vasculitico in diversi organi. La maggior parte dei casi con interessamento renale si osserva in pazienti con preesistente insufficienza renale o che ricevono altri farmaci capaci di provocare nefrite interstiziale acuta, probabilmente perché nell'una come nell'altra eventualità si determina una diminuita escrezione di metaboliti del farmaco capaci di dare l'avvio alla flogosi interstiziale (Eknoyan, 1988a).

*Cimetidina.* – Sono stati riportati alcuni casi di insufficienza renale acuta, ma, meno di rado si osserva che dopo 2-4 settimane di terapia con questo farmaco compaiono proteinuria, piuria e febbre che regrediscono con la sospensione del trattamento. La biopsia renale rivela un intenso infiltrato interstiziale di plasmacellule, linfociti ed eosinofili.

Va anche tenuto presente il fatto che la cimetidina compete con la creatinina nei confronti della secrezione tubulare (Sturgill e Balton, 1985).

*Farmaci antireumatici non steroidei.* – L'insufficienza renale può essere una sia pur rara conseguenza dell'impiego di farmaci antireumatici non steroidei (FANS).

Dei 17 pazienti osservati da Adams *et al.* (1986) in 3 anni, 7 avevano una insufficienza renale acuta che in 3 casi era attribuibile a nefrite interstiziale acuta (da ac. mefenamico; ibuprofene e naproxene), mentre nei restanti era da riferire a danno tubulare; in altri 4 pazienti era presente una discreta compromissione della funzione renale con o senza proteinuria; infine nei rimanenti 6 era presente un quadro di insufficienza renale cronica con fibrosi interstiziale e, in 1 paziente, con necrosi papillare.

Il meccanismo con cui i FANS possono determinare insufficienza renale acuta non è del tutto chiaro: la predominanza di cellule T nell'infiltrato interstiziale suggerisce una patogenesi allergica.

Nel gruppo di pazienti con compromissione della funzione renale è verosimile l'intervento della inibizione delle prostaglandine renali, caratteristica dei FANS.

I casi con insufficienza renale cronica potrebbero costituire l'esito di nefrite interstiziale acuta; sembra tuttavia più frequente l'intervento di un meccanismo nefrotossico favorito dalla riduzione del flusso renale ematico che specie nell'anziano dipende da un intatto sistema prostaglandinico, particolarmente compromesso quando si usino FANS a lunga emivita come naproxene e piroxicam (Adams *et al.*).

*Nefriti interstiziali acute da infezioni*

Quantunque le nefriti interstiziali acute siano state originariamente descritte come conseguenza delle malattie infettive, la ridotta incidenza di queste e l'emergere della patologia da farmaci hanno finito per mettere forse troppo in ombra l'importanza delle forme infettive di nefrite interstiziale acuta.

In realtà poiché in corso di malattie infettive viene di regola prescritta una terapia antibiotica risulta difficile stabilire se una complicazione renale sia da riferire alla malattia primitiva, o ai farmaci che sono stati impiegati per curarla.

Un'altra causa di omissione diagnostica nei confronti delle nefriti interstiziali acute infettive risiede nel pregiudizio che una compromissione renale causata da malattie infettive sia da ascrivere di regola ad una glomerulonefrite.

Le lesioni renali da infezione possono derivare da una diretta invasione dell'agente infettivo o dalla reazione del tessuto renale ad una infezione extrarenale: rientrano nel primo caso la leptospirosi, la brucellosi e la candidiasi e nel secondo le nefriti intrainfettive da scarlattina o da difterite ormai praticamente scomparse.

*Brucellosi.* – Nonostante la frequenza con cui è possibile isolare *Brucella melitensis* dalle urine dei pazienti colpiti, la localizzazione della malattia ai reni è molto rara.

Il quadro istologico comprende accanto ad una glomerulite focale una intensa flogosi interstiziale con infiltrazione di polimorfonucleati. La proteinuria, l'ematuria e la piuria sono le manifestazioni più frequenti (Eknoyan, 1988a).

*Leptospirosi.* – Nella fase itterica della malattia, si sviluppa spesso una nefrite tubulointerstiziale acuta che porta ad un rapido e spesso grave deterioramento della funzione renale. Il quadro è legato ad una localizzazione del germe nell'interstizio nei tubuli renali. Le lesioni di questi ultimi sono costituite da degenerazione epiteliale e necrosi con rottura della membrana basale; l'interstizio circostante le lesioni tubulari è sede di un infiltrato costituito da mononucleati, plasmacellule ed eosinofili (Eknoyan, 1988a).

L'entità dell'impegno renale e della insufficienza renale acuta che ne consegue è classicamente il più importante fattore capace di condizionarne la prognosi: in particolare la comparsa di oligo-anuria costituisce il segno prognosticamente più sfavorevole.





Digitized by Google

*Candidiasi.* – *Candida albicans* può localizzarsi oltre che nelle cavità renali, nell'interstizio, soprattutto in sede corticale, dove determina una infiltrazione da parte di polinucleati (Eknoyan, 1988a).

*Nefrite interstiziale acuta idiopatica*

L'associazione di nefrite interstiziale acuta con uveite costituisce una entità clinica particolare descritta per la prima volta da Dobrin *et al.* nel 1975.

La sindrome colpisce di preferenza donne in età peripuberale e si manifesta con un quadro iniziale di impegno generale con astenia, nausea, dolori vaganti; compaiono poi in variabile successione i segni a carico dei reni (proteinuria, glicosuria normoglicemica, leucocituria, oliguria, aumento della creatininemia) e l'uveite bilaterale o unilaterale, più spesso anteriore che posteriore (Ten *et al.*, 1988).

La compromissione del *visus* è spesso assai modesta, ma possono talora osservarsi aumento della pressione intraoculare, sinechie, precipitati corneali, edema maculare ed emorragie retiniche (Rosenbaum, 1988).

La biopsia renale dimostra la presenza di infiltrati interstiziali di linfociti, di plasmacellule e di eosinofili; talora sono stati osservati depositi mesangiali di immunoglobuline. Nel puntato midollare l'elemento più caratteristico è costituito da granulomi con linfociti e cellule giganti.

La diagnosi richiede l'esclusione delle forme secondarie a sarcoidosi, tubercolosi, toxoplasmosi, istoplasmosi, mononucleosi infettiva, leptospirosi, brucellosi, sindrome di Sjögren, sindrome di Mikulicz. La terapia con cortisonici può portare a rapida attenuazione del quadro, ma sono descritti anche miglioramenti spontanei (Grünfeld *et al.*, 1988; Ten *et al.*, 1988).

*Malattia anti-membrana basale tubulare*

L'antigene bersaglio della malattia anti-membrana basale tubulare è una glicoproteina (3M-1) secreta dalle cellule del tubulo prossimale.

Perché si sviluppi la malattia è necessario che il soggetto possa «esprimere» l'antigene e che spontaneamente o per induzione di immunodepressione o per presenza di antigeni estranei con reattività crociata (farmaci) venga superata la sorveglianza immunitaria. Intervengono inoltre la risposta immune legata a geni controsoppressivi e il sistema di istocompatibilità maggiore (Neilson, 1989).

La terapia si vale di cortisonici e di immunodepressivi.

**Nefriti interstiziali croniche**

Le nefriti interstiziali (o tubulointerstiziali) croniche comprendono un vasto ed eterogeneo gruppo di affezioni (tab. VII) molte delle quali sotto il profilo clinico possono considerarsi piuttosto un reperto nefrobioptico di accompagnamento, che non l'elemento dominante nell'ambito del quadro clinico.

A parte la recente conferma che la nefropatia da analgesici è sicuramente legata alla fenacetina (Dubach *et al.*, 1991; Stolley, 1991), ci sembra opportuno limitare l'aggiornamento alle nefriti interstiziali croniche da urati e da ossalati.

*Nefrite interstiziale cronica uratica*

La classica nozione di una nefropatia uratica come conseguenza di una persistente iperuricemia con formazione di microtofi nell'interstizio renale e successiva reazione cellulare, è stata messa in dubbio in questi ultimi anni. Alcuni studi longitudinali hanno dimostrato che una riduzione della funzione renale si osserva soltanto se per molti anni l'uricemia si mantiene al di sopra di 10 mg/dl nella donna o di 12 mg/dl nell'uomo. Danno renale per valori più bassi di uricemia è presente soltanto in caso di intossicazione cronica da piombo o quando coesistano ipertensione arteriosa, diabete mellito o gravi iperlipoproteinemie (Eknoyan, 1988b).

TAB. VII. CONDIZIONI MORBOSE ASSOCIATE A NEFROPATIA TUBULOINTERSTIZIALE CRONICA (da Eknoyan, 1988b)

**Malattie immunitarie**
- Lupus eritematoso sistemico
- Sindrome di Sjögren
- Rene trapiantato
- Crioglobulinemia
- Sindrome di Goodpasture
- Nefropatia con IgA
- Amiloidosi
- Pielonefrite?

**Infezioni**
- Sistemiche
- Renali
  - batteriche, virali, da funghi, da micobatteri

**Farmaci**
- Analgesici
- Nitrosurea
- Cisplatino
- Litio
- Altri

**Emopatie**
- Drepanocitosi
- Mieloma multiplo
- Malattie linfoproliferative
- Anemia aplastica

**Metalli pesanti**
- Piombo
- Cadmio
- Altri

**Malattie vascolari**
- Nefrosclerosi
- Malattie ateroemboliche
- Nefropatia da irradiazioni
- Diabete mellito
- Vasculiti

**Malattie metaboliche**
- Iperuricemia; iperuricosuria
- Ipercalcemia; ipercalciuria
- Iperossaluria
- Deplezione di potassio
- Cistinosi

**Malattie ereditarie**
- Malattia cistica della midollare
- Nefrite ereditaria
- Rene a spugna midollare
- Malattia policistica dei reni

**Malattie granulomatose**
- Sarcoidosi
- Tubercolosi
- Granulomatosi di Wegener

**Malattie endemiche**
- Nefropatia dei Balcani
- Nefropatia epidemica

**Forme idiopatiche**





Digitized by Google

Va tuttavia ricordato che studi sperimentali (Cross *et al.*, 1988) hanno dimostrato che il contatto e il successivo passaggio dei cristalli di urato all'interno di cellule di rene di cane mantenute in coltura, suscitano la liberazione di enzimi lisosomali e citosolici, espressione del danno che i cristalli inducono sulle cellule.

*Nefrite interstiziale cronica da ossalati*

L'eliminazione con le urine di una quantità eccessiva di ossalati si accompagna a precipitazione di questi, sotto forma di ossalato di calcio, soprattutto a livello del tubulo distale con conseguente edema e infiltrazione cellulare dell'interstizio, specie in sede midollare, il che, nei casi ad andamento cronico, finisce per determinare fibrosi interstiziale e atrofia tubulare, cioè una nefrite tubulointerstiziale cronica con insufficienza renale progressiva.

L'iperossaluria che è alla base di tale condizione può essere acquisita (intossicazione da glicole etilenico o da ac. ascorbico, da iperassorbimento in pazienti con resezione intestinale) oppure primitiva (Eknoyan, 1988b). Negli operati di *bypass* digiuno-ileale, come terapia chirurgica dell'obesità, la nefrite interstiziale cronica granulomatosa, attribuita alla presenza di cristalli di ossalato, migliora dopo il ristabilimento del normale transito intestinale (Verani *et al.*, 1989).

L'iperossaluria primitiva, un raro difetto genetico di cui si distinguono 2 tipi, può determinare a carico del rene, oltre al più frequente quadro di una calcolosi da ossalato di calcio, una nefrite interstiziale con fibrosi e danno tubulare. Dal punto di vista clinico questa forma morbosa è caratterizzata da insufficienza renale cronica che è spesso accompagnata, ma talora è preceduta, da artrite acuta similgottosa e da iperuricemia. Il riconoscimento si fonda sulla escrezione con le urine di ossalato in quantità di almeno 100 mg/24 h, con progressiva riduzione di tali valori a mano a mano che la funzione renale si riduce (Williams e Smith, 1983).

V. anche: OSSALOSI ED IPEROSSALURIE (X, 2096).

**Bibliografia**


Adams D. H. *et al.*, *Lancet*, 1986, **1**, 57.
Boton R. *et al.*, *Am. J. Kidney Dis.*, 1987, **10**, 329.
Chang H. F. *et al.*, *Nephrol. Dial. Transpl.*, 1989, **4**, 205.
Cross M. *et al.*, *Kidney Intern.*, 1988, **35**, 747 (abstract).
Dobrin R. S. *et al.*, *Am. J. Med.*, 1975, **59**, 325.
Dubach U. C. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1991, **324**, 155.
Eknoyan G., *Acute Renal Failure*, 1988, Churchill Livingstone, New York.
Eknoyan G., *Chronic Tubulointerstitial Nephropaties*, in Schrier R. W., Gottschalk C. W., 1988b, *loc. cit.*
Grünfeld J. P. *et al.*, *Acute Interstitial Nephritis*, in Schrier R. W., Gottschalk C. W., *loc. cit.*
Heptinstall R. H., *Pathology of the Kidney*, 1983, 3 ed., Little, Brown, Boston.
Hillman R. E., *Primary Hyperoxalurias*, in Scriver C. R. *et al.* eds., *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, 1989, McGraw-Hill, New York.
Humphreys M. H., Schoenfeld P. Y., *Kidney*, 1987, **20**, 7.
Linton S. L. *et al.*, *Clin. Nephrol.*, 1985, **24**, 84.
Myers B. D., *Kidney Intern.*, 1986, **30**, 964.
Neilson E. G., *Kidney Intern.*, 1989, **35**, 1257.
Nolan C. R., Kelleher S. P., *Clin. Lab. Med.*, 1988, **8**, 555.
Rosenbaum J. T., *Am. J. Ophtalmol.*, 1988, **105**, 534.
Schrier R. W., Gottschalk C. W., *Diseases of the Kidney*, 1988, Little Brown, Boston.
Stolley P. D., *N. Engl. J. Med.*, 1991, **324**, 191.
Sturgill B. C., Bolton W. K., *Pathology Annual*, 1985, Appleton-Century-Crofts, Norwalk.
Ten R. M. *et al.*, *Mayo Clin. Proc.*, 1988, **63**, 921.
Tisher C. C., Madsen K. M., *Nephrology*, 1988, Baillière Tindall, London.
Verani R. *et al.*, *Am. J. Nephrol.*, 1989, **9**, 51.
Wilson C. B., *Kidney Intern.*, 1989, **35**, 938.


VITO CAGLI

## NEONATO [v. vol. X, col. 337]

SOMMARIO GENERALE



### SINDROMI RESPIRATORIE

SOMMARIO



#### Crisi di apnea nel neonato pretermine

La crisi di apnea è un'interruzione dell'attività respiratoria per 10 o più sec, spesso accompagnata da bradicardia e cianosi. È un problema molto comune nei soggetti con meno di 34 settimane di età gestazionale, nei quali spesso si presenta dopo il 4° giorno di vita sotto forma di episodi ricorrenti. Con il monitoraggio transcutaneo è stata osservata una diminuzione media della $PO_2$ dell'1,5% al sec durante la crisi, la cui risoluzione non richiede necessariamente un intervento rianimativo. Dal punto di vista clinico si differenzia quindi dall'apnea del neonato a termine e del lattante, che dura 20 o più sec, ed è sempre accompagnata da cianosi o pallore e da bradicardia, richiedendo perciò un tempestivo intervento rianimativo. Tale forma di apnea è infatti considerata la base patogenetica della morte improvvisa (*Sudden Infant Death Syndrome*; SIDS; v. MORTE IMPROVVISA, IX, 1994).

Nel n. pretermine è frequente anche il respiro periodico: una serie di pause respiratorie che durano da 2 a 10 sec, interposte a periodi di attività respiratoria che durano da 8 a 18 sec, ripetute almeno tre volte in un minuto. Il respiro periodico non è mai accompagnato da bradicardia o cianosi, anche se può verificarsi per pochi secondi una diminuzione della frequenza cardiaca di 5-20 atti/min e una riduzione della saturazione in $O_2$ del 5-15%.

Il respiro periodico è sempre di origine centrale, dovuto cioè ad un'incompleta maturazione dei sistemi di controllo dell'attività respiratoria. Nella crisi d'apnea invece, oltre a tale meccanismo patogenetico, interviene in molti casi un meccanismo di tipo ostruttivo, caratterizzato dall'assenza di flusso aereo in presenza di sforzi inspiratori. È opportuno ricordare che nel n. pretermine, specialmente quello di peso molto basso ($\leq$ 1500 g; *Very Low Birth Weight*, VLBW), è sufficiente la modesta pressione negativa che si crea nelle prime vie aeree durante la fase inspiratoria per provocarne il collabimento. Questo meccanismo entra in gioco nel 70% degli episodi di apnea, anche con il concorso di alcuni fattori favorenti, come l'iperflessione del capo e la presenza di secrezioni. In circa la metà dei casi è comunque possibile inquadrare la crisi d'apnea come forma mista, caratterizzata cioè dalla coesistenza dell'ostruzione meccanica e dell'alterazione del controllo nervoso. Quest'ultima è dovuta all'immaturità sia del centro del respiro, i cui neuroni nel pretermine hanno pochi dendriti e scarse connessioni sinaptiche, sia dei chemosensori che dovrebbero stimolare il centro del respiro in risposta alle variazioni ema-



Digitized by Google

tiche di $PCO_2$, pH e $PO_2$. fnfatti, mentre nel n. a termine l'ipercapnia e l'ipossia fanno aumentare la ventilazione, nel pretermine e tanto più nel VLBW, al contrario, sono causa di depressione respiratoria. In particolare, la ipossia provoca una risposta caratterizzata da un aumento iniziale della ventilazione della durata di circa un minuto, seguito da una sua marcata depressione. fnoltre, esattamente come nella persona anziana, la curva di risposta alla $PCO_2$ è spostata a destra, e tale ridotta sensibilità alla $CO_2$ si esprime con una marcata tendenza all'ipoventilazione.

La profilassi e la terapia della crisi d'apnea si avvalgono di due mezzi: la pressione positiva continua (PPC) e i farmaci analettici centrali. L'applicazione della PPC mediante nasocannula impedisce il collabimento delle prime vie aeree, che è alla base dell'apnea ostruttiva. Inoltre, grazie all'aumento della capacità funzionale residua, essa stabilizza la meccanica polmonare, riducendo così il lavoro respiratorio. Ciò è particolarmente utile nel VLBW, nel quale sia l'abnorme cedevolezza della parete toracica che la carenza di surfattante tendono ad aggravare la spesa energetica. fnfine, contrastando la formazione di zone atelettasiche, la PPC garantisce una ventilazione più omogenea, con miglioramento del rapporto ventilazione/perfusione e quindi degli scambi gassosi.

Dal punto di vista farmacologico, accanto alla caffeina citrato (attacco 10 mg/kg, mantenimento 2,5 mg/kg ogni 12 h), è stato recentemente introdotto il doxapram (Doxapril®, attacco 2-4 mg/kg e. v. rapida, mantenimento 1-2 mg/kg/h in fleboclisi continua). Tale farmaco deve essere sempre somministrato in associazione alla caffeina.

Per crisi d'apnea persistenti nonostante l'uso della PPC e degli analettici è necessario ricorrere alla ventilazione meccanica previa intubazione tracheale.

**Peculiarità della malattia delle membrane ialine polmonari nel neonato di peso molto basso**

La malattia delle membrane ialine (*Hyaline Membrane Disease*) nel n. di peso molto basso (VLBW) richiede un grande impegno sia per la rilevanza epidemiologica sempre maggiore, sia per la difficoltà di trattamento. fnfatti nell'ultimo decennio i progressi nella conduzione della gravidanza, del parto e dell'assistenza neonatale, migliorando la prognosi del VLBW, hanno aumentato il numero dei candidati alla malattia delle membrane ialine. Questa assume spesso aspetti etiopatogenetici, istopatologici, clinici e radiografici peculiari. Ad es., il deposito di materiale ialino può formarsi più lentamente o mancare, sia perché la distanza alveolo-capillare è maggiore, sia per le caratteristiche del meccanismo patogenetico. L'estrema immaturità dei recettori dei vasi polmonari provoca infatti vasodilatazione in risposta all'ipossia, invece di vasocostrizione; ne deriva una condizione di iperafflusso polmonare, anche per la pervietà del dotto arterioso, spesso presente nelle fasi precoci della malattia.

L'edema polmonare rappresenta quindi l'aspetto istopatologico caratterizzante. Di conseguenza il quadro radiografico può essere atipico: in luogo del classico quadro reticolo-granulare si osserva spesso un'ipotrasparenza diffusa, cui può seguire direttamente il quadro della displasia broncopolmonare. Pertanto la diagnosi di malattia delle membrane ialine nel VLBW è più difficile, anche perché i sintomi possono essere più sfumati rispetto al n. di peso maggiore: in luogo del classico *distress* respiratorio prevalgono le crisi d'apnea, i segni della pervietà del dotto arterioso e dello scompenso cardiaco.

D'altra parte è spesso necessario procedere precocemente all'intubazione e alla ventilazione meccanica, poiché il rischio di complicanze dovute all'ipossia, come l'emorragia endocranica e l'enterocolite necrotizzante, è maggiore rispetto agli altri n.

Nella fase iniziale del trattamento, tenuto conto della maggiore incidenza in questi soggetti di pneumotorace iatrogeno, è opportuno selezionare parametri ventilatori meno invasivi possibile. fn particolare occorre impostare bassi valori di MAP (*Mean Airway Pressure*) e di MIP (*Mean Inspiratory Pressure*). fnfatti, soprattutto a questi parametri è legata l'entità del barotrauma e quindi del danneggiamento della parete broncoalveolare. Ne consegue, al fine di ottenere un'ossigenazione soddisfacente, la necessità di privilegiare gli incrementi della $FiO_2$. fn pratica è opportuno selezionare inizialmente sul respiratore automatico un'onda pressoria a morfologia triangolare, con un rapporto inspirazione-espirazione di f:f, una pressione picco di f5-20 cm$H_2O$, una pressione positiva di fine espirazione di 2-3 cm$H_2O$ e una frequenza di 40-50 cicli/min. Con questi parametri la MAP e la MIP che ne derivano sono, rispettivamente, di 5-7 e 8-10 cm$H_2O$.

Durante le fasi successive del trattamento, tenuto conto della maggiore incidenza nel VLBW di displasia broncopolmonare, è opportuno utilizzare il meno possibile l'onda pressoria a morfologia quadrata, che è più traumatica. Nella fase di risoluzione è opportuno variare rapidamente la modalità di ventilazione, passando all'IMV (*Intermittent Mandatory Ventilation*) se il respiro spontaneo è valido. Poiché la durata del periodo d'intubazione è anch'essa legata al rischio di displasia broncopolmonare, sarebbe preferibile eseguire l'estubazione il più precocemente possibile e proseguire l'assistenza ventilatoria con la nasocannula. fnoltre la fisioterapia polmonare, di routine nelle sindromi respiratorie neonatali, è essenziale nel VLBW sottoposto a ventilazione meccanica; infatti il ristagno delle secrezioni, favorito dalla presenza del tubo endotracheale, gioca un ruolo importante nella patogenesi della displasia broncopolmonare. La suddetta procedura, che mira a fluidificare e a mobilizzare verso l'esterno le secrezioni che ingombrano l'albero respiratorio, viene attuata con aerosol, percussioni e vibrazioni praticate sulla parete toracica, variazioni periodiche della postura e aspirazioni accurate delle vie aeree.

**Il surfattante suppletivo nella terapia della malattia delle membrane ialine**

Il surfattante è una miscela di fosfolipidi, lipidi neutri e proteine prodotta e immagazzinata nei pneumociti di tipo 2. Nella specie umana è presente negli alveoli a partire dalla 25ª settimana di età gestazionale. La presenza del surfattante negli alveoli dopo la nascita è essenziale per una funzione polmonare normale; essa riduce infatti la tensione superficiale che si crea a livello dell'interfase aria/acqua (aria alveolare/rivestimento liquido degli alveoli), consentendo l'espansione e la stabilità alveolare e quindi la riduzione del lavoro respiratorio. La carenza di surfattante rappresenta quindi la base patogenetica della malattia delle membrane ialine, la cui incidenza, infatti, è inversamente proporzionale all'età gestazionale dei soggetti colpiti.

f primi tentativi coronati da successo di curare la malattia delle membrane ialine, sostituendo il surfattante endogeno carente con surfattante esogeno, sono stati condotti nel 1980 da Fujiwara, che ha osservato un significativo miglioramento degli scambi gassosi e della sopravvivenza con l'instillazione endotracheale di surfattante estratto dal polmone bovino. Oggi l'efficacia del surfattante esogeno suppletivo nel trattamento della malattia delle membrane ialine è documentata da un gran numero di studi controllati e la



Digitized by Google

sua somministrazione mediante instillazione nell'albero respiratorio, attraverso il tubo endotracheale, è entrata nella pratica assistenziale dei Centri di terapia intensiva neonatale di tutto il mondo. Il risultato più appariscente è stata la fine della malattia delle membrane ialine come principale causa di morte perinatale nel n. di basso peso. Inoltre, usando tale mezzo terapeutico, è di solito necessaria un'assistenza ventilatoria meno invasiva: ne è conseguita una riduzione delle complicanze acute e croniche della ventilazione meccanica, come le rotture alveolari e la displasia broncopolmonare. Gli studi più recenti sembrano invece mettere in dubbio l'utilità del surfattante suppletivo per la profilassi della malattia delle membrane ialine, somministrato cioè al n. pretermine subito dopo la nascita, prima della comparsa dei segni clinici.

Attualmente sono in commercio tre tipi di surfattante esogeno; il più usato negli Stati Uniti e in Giappone è il surfattante semisintetico di Fujiwara (Survanta®, Ross Laboratories), allestito con omogenati di polmone bovino e fosfolipidi sintetici. Sempre negli Stati Uniti viene anche utilizzato un surfattante esogeno artificiale, miscela di componenti sintetici (Exosurf®, Borroughs Wellcome). In Europa è ampiamente diffuso l'uso di un surfattante esogeno naturale estratto dal polmone del maiale (Curosurf®, Chiesi Farmaceutici) (cfr. Avery e Merritt, 1991). L'uso del surfattante esogeno naturale omologo, proveniente cioè dal liquido amniotico umano, è stato invece abbandonato. Anche se dal punto di vista teorico sarebbe il più fisiologico, le difficoltà della sua preparazione ne limitano la diffusione su larga scala; per preparare una dose è infatti necessario il liquido amniotico di tre gravidanze a termine. Il surfattante di origine animale e quello artificiale hanno un'efficacia simile a quella del surfattante umano, con il vantaggio di un approvvigionamento più facile che ne permette la produzione in quantità molto elevata e a costi inferiori.

**Trattamento ventilatorio dell'ernia diaframmatica congenita**

Dal momento che la diagnosi di ernia diaframmatica congenita viene di solito fatta in gravidanza, mediante esame ecografico, è possibile predisporre, già al momento del parto, i mezzi terapeutici opportuni. Il n. deve essere intubato e collegato al respiratore automatico il più presto possibile, per evitare l'instaurarsi di acidosi metabolica e ipossia. In questa fase è opportuno impostare una ventilazione meccanica caratterizzata da frequenze elevate (anche 100 cicli/min), da tempi d'inspirazione brevi e da onde pressorie a morfologia triangolare. Va tenuto presente che la ventilazione alveolare è a carico di un solo polmone, generalmente il destro, che per altro è notevolmente atelettasico.

D'altro canto l'attuale orientamento nel trattamento dell'ernia diaframmatica è quello di intervenire chirurgicamente solo dopo aver ottenuto una soddisfacente espansione polmonare, tale da permettere di arrivare all'intervento con parametri emogasanalitici normali. L'intervento d'urgenza in un soggetto ipossico e acidotico non sembra infatti migliorare la prognosi.

**Polmonite da *Pneumocystis carinii***

L'agente etiologico della polmonite da *Pneumocystis carinii* è un micete (così ora ritenuto sulla base dell'analisi del RNA ribosomale) che può infettare il polmone sia nella forma cistica che extracistica. La riproduzione del parassita avviene all'interno delle cisti per scissione binaria; le cisti mature hanno un diametro di 4-6 μm e possono contenere fino a 8 cellule figlie. Spesso le cellule figlie attraversano la parete cistica e invadono il tessuto polmonare, dove tendono a formare piccoli agglomerati.

Colorato con il Giemsa il nucleo del microrganismo appare viola scuro e il citoplasma blu pallido.

La polmonite da *P. carinii* si verifica quasi esclusivamente nei soggetti immunodepressi. Sono particolarmente colpiti, quindi, i n. di basso peso. Inoltre, attualmente tale patologia rappresenta la causa più frequente di morbidità e di mortalità nei soggetti con sindrome da immunodeficienza acquisita (*Acquired Immune Deficiency Syndrome*, AIDS).

Recentemente è stato osservato che una glicoproteina di superficie di *P. carinii* (GP 120) è in grado di stimolare una risposta immunitaria specifica; tale risposta, che nel soggetto non immunodepresso può avviare il processo di guarigione, consiste sia in un'attivazione dei linfociti T che in una notevole produzione anticorpale.

La modalità di contagio nel n. è tuttora sconosciuta: si può infatti ipotizzare sia una trasmissione intrauterina per via ematogena che interumana dopo la nascita. Dopo essere arrivato nei polmoni *P. carinii* aderisce alle cellule alveolari e ne provoca la distruzione senza penetrarvi. Pertanto all'esame istologico gli alveoli appaiono dilatati con all'interno un essudato spugnoso, in cui si può rinvenire il microrganismo. È presente in genere un'infiltrazione istiocitaria dei setti.

Il quadro clinico si presenta come una sindrome respiratoria rapidamente ingravescente, in cui spiccano la tachipnea e la cianosi.

La diagnosi è basata sulla radiografia del torace, che può evidenziare infiltrati ilifughi bilaterali con accentuazione della trama interstiziale ed enfisema; talora è presente un'adenopatia ilare. L'isolamento del parassita dallo escreato, come pure da un frammeto del polmone prelevato per agobiopsia, conferma la diagnosi.

La terapia della polmonite da *P. carinii* si avvale del trimetoprim-sulfametossazolo (20-100 mg/kg/*die* in 2 dosi *per os* per 2 settimane). Altro farmaco d'elezione è la pentamidina, la cui somministrazione è però frequentemente associata a nefrotossicità, ipoglicemia.

Per più ampi particolari, v. PNEUMOCYSTIS CARINII, INFEZIONI DA*; POLMONITI*.

**Bibliografia**

Avery M. E., Merritt T. A., *N. Engl. J. Med.*, 1991, **324**, 910.
Brady J. P., Brooks J. G., *Abnormalities of Control of Ventilation*, in Rudolph A. M. ed., *Pediatrics*, 1987, Appleton & Lange, Norwalk, p. 1376.
Carlo W. A., Martin R. J., *Pediatr. Clin. North Am.*, 1986, **33**, 221-237.
Hughes W. T., *Chest*, 1984, **85**, 810.
Mammel M. C. *et al.*, *Pediatr. Pulmunol.*, 1990, **8**, 222.
Marchal F., Bairam A., Vert P., *Clin. Perinatol.*, 1987, **14**, 509.

MODESTO MENDICINI E ANTONIO DE MERULIS

## INFEZIONI E SEPSI (X, 384)

SOMMARIO



**Introduzione**

Ad integrazione di quanto descritto nel capitolo primario sulle sepsi neonatali (X, 384-399), vengono qui presentati



Digitized by Google

alcuni recenti aspetti che negli ultimi anni hanno acquisito rilevanza.

Con il miglioramento degli standard terapeutici ed assistenziali nell'ambito dei Centri di terapia intensiva neonatale, le sepsi con decorso ordinario vanno facilmente incontro a risoluzione clinica. Viceversa, si sono sempre più selezionati quadri infettivi atipici, difficilmente dominabili e spesso a decorso infausto. In questo particolare gruppo, che denominiamo *sepsi difficili*, possono essere incluse:

1) le sepsi con neutropenia e/o deplezione del *pool* dei neutrofili;

2) le sepsi nei n. di peso molto basso;

3) le sepsi causate da agenti patogeni particolarmente aggressivi o resistenti alla terapia antibatterica (*Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* k1).

È opportuno, inoltre, integrare il capitolo delle sepsi neonatali con la descrizione di alcune *infezioni causate da germi particolari*, i quali determinano un quadro clinico caratteristico. Fra queste consideriamo:

a) la malattia da streptococco di gruppo B (*Streptococcus agalactiae*);

b) la listeriosi congenita;

c) l'infezione da *Chlamydia trachomatis*.

È inoltre essenziale un breve aggiornamento terapeutico, in quanto negli ultimi anni nuove molecole di antibiotici sono entrate nell'uso ed alcune procedure immunologiche hanno acquisito maggior rilevanza.

Nell'ambito delle *infezioni virali* sono recentemente emersi alcuni quadri clinici che meritano una trattazione particolare. Tra questi verranno considerate l'epatite virale congenita e la sindrome da immunodeficienza acquisista in epoca neonatale (v. sotto).

**Sepsi con neutropenia e/o deplezione del *pool* dei neutrofili**

Quando un n. contrae una sepsi iperacuta (per lo più causata da streptococco di gruppo B [*Streptococcus agalactiae*], da *Escherichia coli* o da *Pseudomonas*) è possibile che si instauri una marcata neutropenia associata a deplezione del *pool* di riserva midollare dei neutrofili. L'esaurimento della linea difensiva mieloide è legato sia all'effetto aggregante e lesivo da parte delle tossine batteriche, sia ad un deficit primario della capacità proliferativa delle cellule staminali midollari, che persiste fino a circa 3 settimane di vita.

Quando si instaura la deplezione midollare, la prognosi è quasi sempre infausta e il trattamento antibiotico isolato è inefficace. In questi casi è possibile ottenere un miglioramento della prognosi solo grazie ai tentativi di ricostituzione del *pool* midollare, mediante trasfusione di granulociti o exsanguinotrasfusione.

**Sepsi nei neonati di peso molto basso**

Nonostante i progressi recentemente conseguiti nella terapia antibatterica e assistenziale, il n. di peso molto basso (VLBW: *Very Low Birth Weight*) (< 1,5 kg) è tuttora vittima frequente delle sepsi batteriche. In questi soggetti, infatti, l'episodio infettivo rappresenta spesso l'evento perturbante che va a scomporre il già instabile equilibrio biologico del piccolo prematuro. Vari sono i fattori che concorrono all'aggravamento quasi sempre fatale: da una parte l'estrema immaturità immunologica (deficit di opsonizzazione, di fagocitosi e di *killing*, di immunoglobuline e del complemento), dall'altra la spiccata fragilità tessutale e la disfunzione dei processi reattivi e omeostatici. Ciò determina l'instaurarsi di squilibri emodinamici e metabolici, di alterazioni cardiorespiratorie, di attivazione dei sistemi a cascata dell'infiammazione e della coagulazione, con conseguente rischio di insorgenza di patologie minacciose, quali l'enterocolite necrotizzante, la coagulazione intravascolare disseminata, lo shock settico e la disfunzione multipla d'organo.

**Sepsi stafilococciche**

Le frequenti infezioni neonatali stafilococciche rappresentano tutt'ora un problema grave e ad evoluzione molto insidiosa. In passato, lo *Staphylococcus aureus* era la specie colonizzante che prevaleva, mentre, recentemente, vi è stato un sensibile incremento delle infezioni da *Staphylococcus epidermidis*, soprattutto nei n. pretermine e di basso peso, ricoverati presso i Centri di terapia intensiva neonatale. Infatti, tali pazienti sono sottoposti a routine assistenziali che prevedono manipolazioni invasive (cateteri centrali, cannule orotracheali, *set* per infusione, etc.) e uso prolungato di antibiotici ad ampio spettro. In questi n., inoltre, ai ben noti difetti dei meccanismi di difesa immuno-aspecifici verso tutti i patogeni extracellulari, si aggiunge il deficit immunologico selettivo verso lo stafilococco. D'altra parte, questo germe ha elaborato propri sistemi (aggressina, proteina A, leucocidina) con i quali difendersi dall'aggressione dei meccanismi immunologici cellulari ed umorali dell'ospite.

Le infezioni stafilococciche nel n. possono manifestarsi con estrema variabilità clinica (tab. I).

Tralasciando la descrizione delle forme classiche (già descritte altrove), in questa sede l'attenzione viene focalizzata su quelle manifestazioni cliniche peculiari del n. ricoverato presso i Centri di terapia intensiva.

*Sepsi da Staphylococcus epidermidis*

Inizialmente si riteneva che lo *S. epidermidis* determinasse soltanto sepsi a decorso torpido e con sintomatologia aspecifica. Più recentemente, inoltre, sono state individuate infezioni focali, spesso primarie, che costituiscono i punti di partenza della disseminazione ematogena. Tali infezioni originano in corrispondenza di cateteri profondi, applicati a scopo terapeutico e diagnostico; la sintomatologia è per lo più subclinica ma, se misconosciuta, esplode prima o poi nella forma di una sepsi grave e conclamata. Quando lo *S. epidermidis* colonizza il tratto intestinale, in seguito al posizionamento di cateteri nasogastrici o tubi orotracheali, può determinare una batteriemia associata ad un quadro di «pseudoenterite necrotizzante» non evolutivo verso la perforazione. La patogenesi è essenzialmente legata alla liberazione di citotossine, che determina necrosi ischemica della mucosa intestinale.

**TAB. I. INFEZIONI STAFILOCOCCICHE NEL NEONATO**

**Focali**
impetigine bollosa, foruncolosi, adeniti, cellulite
congiuntivite, rinite, etmoidite
mastite, ascessi
polmonite
meningite
endocardite
osteomielite, artrite

**Sistemiche**
setticemia

**Tossino-dipendenti**
*Staphylococcal Scalded Skin Syndrome* (SSSS)
sindromi scarlattiniformi (v. STAFILOCOCCIE)
*Toxic Shock Syndrome* (TSS)



Digitized by Google

Sebbene di rara osservazione in epoca neonatale, è utile ricordare due quadri infettivi caratteristici dello stafilococco: la SSSS (*Staphylococcal Scalded Skin Syndrome*) e la TSS (*Toxic Shock Syndrome*). La SSSS, conosciuta in passato anche con il nome di malattia di Ritter, è causata da stipiti tossinogenici dello *S. aures* (tipo fagico I, II, III), che elaborano una tossina epiteliotropica («esfoliatina»), responsabile del tipico quadro clinico a carattere disepitelizzante. È caratteristico l'eritema rapidamente confluente, con conseguente vescicolazione e disepitelizzazione ad ampi lembi (cfr. fig. I della voce LYELL, SINDROME DI). È indicato elettivamente il trattamento con antibiotici beta-lattamasi resistenti.

La TSS, causata da stipiti tossinogenici dello *S. aureus*, è stata descritta soltanto in pochissimi casi in età neonatale e deve essere sospettata quando, in presenza di infezione stafilococcica, si instaura rapidamente uno stato di shock altrimenti inspiegabile (v. anche: SHOCK TOSSICO, SINDROME DA).

La *terapia* delle infezioni da *S. aureus* prevede come antibiotici di prima scelta le penicilline beta-lattamasi resistenti, mentre per quelle da *S. epidermidis* è consigliato l'uso della vancomicina, eventualmente associata a rifampicina nei casi di resistenza.

Più recentemente è stata proposta la teicoplanina, quale antibiotico elettivo nelle sepsi gravi da stafilococco (v. sotto).

**Malattia da streptococco di gruppo B (*Streptococcus agalactiae*)**

L'infezione neonatale da streptococco di gruppo B è causata principalmente dai sierotipi Ia, Ib, Ic, II e III e la trasmissione materno-fetale avviene prevalentemente durante il passaggio nel canale del parto.

La malattia può esordire precocemente (entro le prime 24 h di vita) con *distress* respiratorio, shock settico e coagulazione intravascolare disseminata. È caratteristico l'esame dell'aspirato gastrico, che mette in evidenza polimorfonucleati e cocchi grampositivi.

Il quadro clinico ad insorgenza tardiva (3ª-4ª settimana fino al 3° mese di vita) è caratterizzato da meningite purulenta ed è causato dal sierotipo III, ritenuto il più virulento.

L'infezione congenita può essere prevenuta mediante il trattamento precoce della gestante con ampicillina. Gli antibiotici di elezione nella terapia della sepsi e della meningite neonatale sono la penicillina (200.000-300.000 U./kg/*die* e. v.) o l'ampicillina (200 mg/kg/*die* e. v.), eventualmente in associazione con gentamicina in caso di infezioni recidivanti.

V. anche STREPTOCOCCUS GENERE*.

**Listeriosi congenita**

La *Lysteria monocytogenes* è un bacillo grampositivo, che può trasmettersi dalla madre al feto per via transplacentare, per via amniotica o per contaminazione *intrapartum*. Possiamo individuare alcuni quadri clinici prevalenti a seconda della modalità di trasmissione. La forma precoce e conclamata insorge in seguito a *trasmissione transplacentare*; il n. è spesso pretermine e presenta caratteristici noduli miliari (listeromi), disfunzione dei principali apparati e shock settico. L'infezione *per via amniotica* o *intrapartum* si manifesta più tardivamente (3ª-4ª settimana di vita) con meningite purulenta; ai fini diagnostici è importante il reperto nel liquor di caratteristici piccoli bacilli grampositivi.

La terapia della listeriosi si avvale in prima istanza dell'ampicillina (200 mg/kg/*die* e. v. per 14 giorni), eventualmente in associazione con un aminoglicoside nei casi più resistenti.

**Infezione da *Chlamydia trachomatis***

La *Chlamydia trachomatis* è un germe «emergente», responsabile di forme infettive trasmesse per via sessuale. L'infezione congenita è più frequentemente trasmessa durante il passaggio nel canale del parto, oppure, più raramente, per coriamnionite ascendente.

Il quadro clinico prevalente nel n. è la *congiuntivite* (25-50% dei nati da madri infette), mentre la *polmonite* (10-25%) è meno frequente. La congiuntivite ha esordio precoce (2°-14° giorno di vita), con localizzazione per lo più monolaterale e scarsa secrezione mucopurulenta, ricca di polimorfonucleati, non contenenti le classiche inclusioni della *Chlamydia trachomatis*.

La polmonite esordisce più tardivamente (1°-3° mese di vita), con caratteristica tosse pertussoide a colpi staccati, congiuntivite, otite media e possibili crisi d'apnea. Il quadro radiografico è quello di una polmonite interstiziale con focolai di addensamento bilaterali ed iperespansione polmonare. Caratteristica è l'eosinofilia ematica con ipergammaglobulinemia.

L'infezione respiratoria può esordire anche più precocemente, soprattutto se il n. è pretermine, con manifestazioni cliniche più gravi, ma aspecifiche (*distress* respiratorio, crisi d'apnea, ipoespansione polmonare, difficoltà nell'alimentazione); mancano, infatti, sintomi peculiari quali la tosse pertussoide e l'eosinofilia è tardiva o assente.

La diagnosi rapida si basa sulla dimostrazione delle tipiche inclusioni intracitoplasmatiche nelle cellule dell'epitelio congiuntivale o del nasofaringe colorate con il Giemsa, oppure sulla immunofluorescenza indiretta con anticorpi monoclonali sul medesimo prelievo. L'isolamento in coltura del germe necessita, invece, di un tempo di esecuzione maggiore.

La prevenzione dell'infezione congenita da *Chlamydia trachomatis* si effettua con il trattamento della gestante e del suo partner con macrolidi (eritromicina, miocamicina). L'uso alla nascita di colliri contenenti eritromicina è utile per la profilassi della sola congiuntivite neonatale.

Nella terapia della polmonite e della congiuntivite (nella quale la sola terapia topica è insufficiente) l'antibiotico di elezione è l'eritromicina (40-50 mg/kg/*die per os* per 15-21 giorni), o, in caso di resistenza, la miocamicina (35-50 mg/kg/*die per os*). La rifampicina (20 mg/kg/*die per os* per 15 giorni) è da considerare farmaco di seconda scelta nell'eventuale insorgenza di germi resistenti.

**Recenti acquisizioni nella terapia antibiotica e immunologica nelle sepsi del neonato**

Negli ultimi anni sono state poste in commercio nuove molecole antibiotiche, ma soltanto alcune di esse sono state sufficientemente sperimentate in età neonatale (tab. II). Fra queste l'uso delle *cefalosporine di III generazione* (cefotassim, ceftazidima, ceftriassone) ha trovato grande diffusione, in quanto attive sulla maggior parte dei germi gramnegativi responsabili di sepsi neonatali, compresi i ceppi resistenti alla gentamicina. Hanno una buona diffusione nel liquor e sono scarsamente tossiche, tuttavia competono con la bilirubina nel legame con l'albumina. Il loro impiego è elettivo nel trattamento della meningite neonatale, eventualmente in associazione con penicillina. Dati discordanti permangono circa il loro uso in prima istanza nelle sepsi neonatali a etiologia sconosciuta.

Fra i nuovi antibiotici beta-lattamici a struttura monociclica l'*aztreonam* ha ottenuto sufficiente sperimentazione in epoca neonatale. È attivo sulla maggior parte dei germi gramnegativi, compresi enterococchi e *Pseudomonas aeruginosa* ed è resistente alle beta-lattamasi. Diffonde bene





Digitized by Google

**TAB. II. PRINCIPALI NUOVI ANTIBIOTICI IMPIEGATI NELLE SEPSI NEONATALI**

| Farmaco | Vie di somministrazione | Dose (mg/kg) × numero somministrazioni/*die* ≤ 2 kg | | > 2 kg | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | ≤ 7 gg. | > 7 gg. | ≤ 7 gg. | > 7 gg. |
| Ampicillina + sulbactam | e. v.; i. m. | 75 × 2 | 75 × 3 | 75 × 2 | 75 × 3 |
| Aztreonam | e. v.; i. m. | 30 × 2 | 30 × 3 | 30 × 2 | 30 × 4 |
| Cefotassim | e. v.; i. m. | 50 × 2 | 50 × 3 | 50 × 2 | 50 × 3 |
| Ceftazidima | e. v.; i. m. | 50 × 2 | 50 × 3 | 30 × 3 | 50 × 3 |
| Ceftriassone | e. v.; i. m. | 50 × 1 | 50 × 1 | 50 × 1 | 75 × t |
| Imipenem-cilastatina | e. v.; i. m. | 20 × 2 | 20 × 3 | 20 × 2 | 20 × 3 |

nel liquor e non interferisce con la bilirubina nel legame con l'albumina.

Fra tutte le beta-lattamine l'*imipenem-cilastatina*, invece, è quello dotato di spettro più ampio: agisce sui germi gram-negativi, compreso *Pseudomonas aeruginosa*, e mostra buona attività verso i batteri anaerobi ed i grampositivi, incluso *Staphylococcus aureus* e *S. epidermidis* meticillino-sensibili.

Nelle infezioni sostenute da germi divenuti resistenti all'*ampicillina*, l'associazione di quest'ultima *con inibitori irreversibili delle beta-lattamasi*, quali l'*ac. clavulanico* ed il *sulbactam*, ha dato buoni risultati.

La *teicoplanina* è una nuova molecola antibiotica glicopeptidica, ancora in fase sperimentale in epoca neonatale. È attiva su tutti gli stafilococchi, inclusi i ceppi cefalosporino- e meticillino-resistenti e su altri grampositivi (streptococchi, enterococchi, clostridi e *Listeria*).

Il bersaglio elettivo della terapia antibiotica è rappresentato per lo più dalle sepsi isolate del n. vigoroso e dalle batteriemie associate a localizzazioni infettive. Tuttavia, nelle sepsi così dette «difficili» la sola terapia antinfettiva è inadeguata ed è indispensabile la messa in opera di una strategia multifattoriale nel tentativo di aumentare la sopravvivenza. Infatti, il riconoscimento del n. quale ospite immunocompromesso ha determinato lo sviluppo di alcuni orientamenti terapeutici di risanamento immunologico. Fra questi, il trattamento con *immunoglobuline per via endovenosa* (*Ig* e. v.) trova i suoi presupposti sul basso livello sierico di IgG e sulla loro ritardata sintesi autonoma, sull'anomala distribuzione delle varie sottoclassi e sulla scarsa specificità degli anticorpi trasmessi dalla madre.

Per la profilassi delle infezioni lo schema di base proposto prevede un'infusione settimanale di Ig alta dose di 0,5 g/kg/*die*, mentre per la terapia 0,5 g/kg/*die* per 7 giorni nei pretermine e 1 g/kg/*die* per 7 giorni nei nati a termine. Tuttavia, rimane ancora dubbia l'efficacia terapeutica e studi randomizzati estensivi sono necessari per poter esprimere un giudizio definitivo. V. IMMUNOGLOBULINE*.

Sono state anche considerate le *trasfusioni di concentrati granulocitari*, il cui razionale si basa sul riscontro nel n. di neutropenia e/o deplezione midollare del *pool* dei polimorfonucleati e sull'immaturità funzionale dei neutrofili. Risultati promettenti sono stati ottenuti nelle sepsi con deplezione o insufficienza funzionale dei neutrofili, in quelle da germi antibiotico-resistenti (es. *Klebsiella*) e nelle infezioni tardive e/o a decorso torpido.

**Epatite virale neonatale**

I virus che possono provocare danno epatico in epoca neonatale sono numerosi, tuttavia solo alcuni sono specificamente epatotropi: il virus dell'epatite A, B, delta, C (quest'ultimo comprende la maggior parte dei virus responsabili della cosiddetta epatite non-A, non-B; V. EPATITE DA VIRUS*).

La trasmissione materno-fetale dell'*epatite virale A* è poco probabile a causa della breve fase viremica e perché il contagio del n. avviene abitualmente attraverso la via oro-fecale. Il quadro clinico è modesto (moderato ittero e lieve aumento delle transaminasi) e la diagnosi si basa sulla determinazione sierica delle IgM specifiche. È consigliabile la somministrazione di Ig standard (0,02 ml/kg i. m.).

L'*epatite B* è trasmessa durante il passaggio nel canale del parto o per via transplacentare; le probabilità di contagio aumentano qualora l'infezione materna sia stata contratta nel III trimestre di gravidanza e la donna risulti HbeAg-positiva. Più frequentemente il n. è asintomatico oppure può presentare una forma lieve transitoria (ittero ed alterazione degli enzimi epatici) con possibile cronicizzazione. La forma fulminante è piuttosto rara. Gli esami di laboratorio mostrano un marcato aumento sierico degli enzimi epatici, della bilirubina totale e positività dei *markers* specifici. La biopsia epatica può rendersi necessaria per la diagnosi differenziale con l'atresia delle vie biliari.

La profilassi va attuata in tutti i n. di madre HbsAg-positiva mediante la somministrazione di Ig specifiche (2 ml = 200 U.I. i. m.) entro 12 h dalla nascita, da ripetere dopo 30 giorni in caso di patologia in atto. Contemporaneamente alle Ig (ma in altro sito d'iniezione), oppure entro la prima settimana di vita, si somministra la prima dose del vaccino ottenuto da DNA ricombinante (è consigliabile rimandare di 15 giorni se il n. è patologico o pretermine); si procede quindi con la somministrazione della seconda dose ad un mese, della terza a due mesi e della quarta a distanza di 12 mesi dalla prima se il bambino risulta HbsAg-negativo.

Non vi sono controindicazioni all'allattamento al seno per le donne portatrici sane.

L'andamento naturale dell'epatite B può essere aggravato dalla presenza del *virus difettivo delta*, che richiede la presenza del virus epatitico B per la replicazione e allo stesso modo viene trasmesso per linea verticale dalla madre al feto. La diagnosi si basa sul dosaggio sierico degli anticorpi anti-delta.

Recentemente è stato individuato un *virus*, denominato *C* (*Hepatitis C Virus*: HCV), la cui infezione è presente nel 75% dei pazienti affetti da epatite non-A, non-B; è probabile anche la trasmissione materno-fetale. La diagnosi sierologica è possibile attraverso un metodo radioimmunologico specifico. La profilassi si attua con Ig standard (0,02 ml/kg i. m.).



Digitized by Google

**Bibliografia**
Aronoff S. C., Hughes W. T., Kohl S. *et al.*, *Advances in Pediatric Infectious Diseases*, 1988, 1989, 1990, voll. 3, 4, 5, Year Book, New York.
Fanaroff A. A., Martin R. J., *Neonatal-Perinatal Medicine. Disease of the Fetus and Infant*, 1987, Mosby, St. Louis.
Mandell G. L., Douglas R. G., Bennett J. E., *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 1990, Churchill Livingstone, New York.
Nelson J. D., *Pocketbook of Pediatric Antimicrobial Therapy*, 1989, Williams & Wilkins, New York.

**Sindrome da immunodeficienza acquisita neonatale**

Con la crescente diffusione della sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS), sempre più frequentemente vengono segnalati casi neonatali di questa malattia, per cui si ritiene utile svilupparne in questo capitolo una breve trattazione separata.

Il n. contrae questa malattia dalla madre infetta e la trasmissione del virus specifico (HIV) può avvenire per via transplacentare (la via più frequente), durante il parto ed attraverso l'allattamento al seno.

Più raramente il n. può infettarsi attraverso le trasfusioni di sangue o emoderivati contaminati. L'attuale controllo dei donatori ha sensibilmente ridotto, ma non del tutto eliminato, questa modalità di contagio: infatti, i donatori con infezione recente possono essere viremici ma non ancora sieropositivi.

La semplice sieropositività del n. non esprime necessariamente una condizione di malattia latente o già in atto. Infatti, può trattarsi di un trasferimento passivo di anticorpi da parte di madre solo sieropositiva ma non infettante. Per accertare se il n. è a rischio reale di infezione è opportuno eseguire i test per l'identificazione diretta nel sangue dell'HIV o dei suoi antigeni o delle IgM specifiche. Dal momento che questi esami specifici non sono eseguibili in tutti i laboratori, né del tutto affidabili, la conferma diagnostica di avvenuta infezione si ottiene con il monitoraggio nel tempo del titolo anticorpale ovvero con la comparsa delle prime manifestazioni cliniche.

*Sintomatologia*

La maggior parte dei n. infettati è completamente asintomatica nei primi mesi di vita e sviluppa i primi sintomi non prima di 4-24 mesi. Una minoranza di soggetti può ammalarsi tardivamente a 7-8 anni di età. Quando i sintomi specifici dell'AIDS si rendono manifesti, appare un quadro clinico proteiforme che interessa vari organi ed apparati: linfoadenopatia, epatosplenomegalia, difetto di crescita, *rash* cutaneo, diarrea, polmonite interstiziale linfocitaria, infezioni batteriche ricorrenti da patogeni opportunisti, malattie virali e micotiche (in particolare candidiasi) generalmente insolite in un lattante.

Le infezioni opportunistiche nel paziente pediatrico HIV-positivo sono meno frequenti che nell'adulto, anche se con l'incremento della casistica questa differenza risulta meno appariscente: la polmonite da *Pneumocystis carinii* incide infatti in oltre il 50% dei casi (v. anche sopra, col. 5335). Certamente lo spettro dei patogeni opportunisti è nel bambino più ristretto.

La caratteristica sindrome dismorfica del n. (basso peso alla nascita, bozze frontali prominenti, naso a sella, rime palpebrali oblique, sclere blu, ipertelorismo e accentuazione del labbro superiore), precedentemente associata ad infezione intrauterina precoce da HIV, è attualmente in discussione.

L'insorgenza di sintomi neurologici può essere messa in rapporto con una localizzazione del virus nelle strutture encefaliche, ma anche con la presenza di infezioni associate (*Cytomegalovirus, Herpesvirus, Toxoplasma, Candida*, etc.) capaci di indurre encefalopatia, meningite, microcefalia, atrofia cerebrale e caratteristiche calcificazioni dei gangli della base.

*Diagnosi*

La diagnosi di AIDS congenita può essere effettuata soltanto in un bambino di età inferiore ai 15 mesi, che presenti il quadro clinico sopra descritto e nel quale si sia potuto identificare il virus nel sangue e/o nei tessuti, gli anticorpi specifici e uno stato di immunodeficienza umorale e cellulare.

Ad un anno di età i lattanti che non sono stati effettivamente infettati diventano sieronegativi. Viceversa, quelli che rimangono sieropositivi al test ELISA ed al *Western blot* si presume siano infetti, anche se ancora asintomatici. L'ipergammaglobulinemia e le alterazioni dei test di funzionalità linfocitaria possono orientare verso l'infezione, mentre, contrariamente all'età adulta, il numero dei linfociti circolanti e il rapporto tra le sottopopolazioni linfocitarie T4/T8 sono per lo più nella norma.

La diagnosi differenziale va considerata soprattutto nei confronti delle forme più gravi di immunodeficienza primaria e secondaria.

*Trattamento*

Allo stato attuale non si dispone di farmaci specifici capaci di neutralizzare il virus: pertanto il trattamento dell'AIDS neonatale è tuttora insoddisfacente ed empirico. L'impiego della zidovudina (AZT), eventualmente associata alla dideossicitidina (DDC), ha mostrato risultati contrastanti.

È necessaria l'identificazione dei vari patogeni specifici per effettuare un trattamento delle infezioni concomitanti ed opportunistiche. Infusioni di Ig e.v. ad alte dosi sono consigliate a scopo preventivo nei confronti delle frequenti infezioni batteriche.

Non possono essere somministrati vaccini con virus vivi attenuati ed il sangue e gli emoderivati devono essere irradiati prima dell'infusione, per evitare la possibile insorgenza di *Graft versus Host Disease* (GvHD), dato lo stato di immunodeficienza.

**Bibliografia**
Dossett J. H., *AIDS: Perinatal HIV infection*, in Nelson M. N. ed., *Current Therapy in Neonatal-Perinatal Medicine*, 1990, Decker, New York, p. 177-180.
Pizzo P. A., *J. Infect. Dis.*, 1990, **161**, 316.
Terragna A. *et al.*, *La sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS) in età pediatrica*, *Medicina-Riv. EMI*, 1990, **10**, 256-262.

FRANCESCO LAURENTI, ANNABELLA BRAGUGLIA
E SILVIA PATRIZI

## IL NEONATO DI MADRE TOSSICODIPENDENTE

SOMMARIO



**Assunzione di sostanze stupefacenti e gravidanza**

L'assunzione abituale di sostanze stupefacenti da parte della gestante induce una serie di problemi che possono compromettere sia il normale andamento della gravidanza sia l'organismo del n. Infatti, a causa del basso peso molecolare, l'eroina e le altre droghe attraversano la placenta, si distribuiscono ai tessuti fetali e generano patologie a diversi livelli. Il crescente diffondersi dell'uso degli stupefacenti



Digitized by Google

**TAB. III. PRINCIPALI DROGHE RESPONSABILI DI TOSSICITÀ MATERNO-FETALE**

**Oppiacei**
- Codeina
- Eroina
- Meperidina
- Metadone
- Morfina
- Pentazocina

**Barbiturici**
- Fenobarbitale
- Secobarbitale

**Miscellanea**
- Alcol
- Clordiazepossido
- Clorpromazina
- Diazepam
- Difenidramina
- Glutetimide

tra le donne in età fertile ha recentemente focalizzato l'attenzione su questo problema che ha importanti risvolti clinici e sociali. Si calcola che vi siano in Italia ogni anno circa 3000 gravidanze in donne tossicodipendenti, delle quali circa l'80% viene portato a termine.

Sebbene numerose droghe possano svolgere un effetto tossico sull'organismo della gestante e del feto (tab. III), un ruolo preminente è rappresentato dagli oppiacei ed in particolare dall'eroina.

**Assunzione di sostanze stupefacenti e gravidanza**

La gestante tossicodipendente va incontro ad una serie di problemi che possono compromettere la vita propria e del feto (tab. IV). Di frequente osservazione sono l'aborto, il distacco placentare, la morte intrauterina del feto, il parto prematuro e la natimortalità. La gestante tossicodipendente, inoltre, va incontro ad iponutrizione e, dal momento

**TAB. IV. PRINCIPALI PROBLEMI OSTETRICO-FETALI ASSOCIATI A TOSSICODIPENDENZA MATERNA**

- Infertilità
- Aborto
- Asfissia fetale
- Anemia materno-fetale
- Emorragia placentare
- Distacco di placenta
- Infezioni (epatite, gonorrea, lue, AIDS)
- Rottura prematura delle membrane

**TAB. V. PRINCIPALI PROBLEMI PERI- E POSTNATALI ASSOCIATI A TOSSICODIPENDENZA MATERNA**

- Prematurità
- Basso peso alla nascita
- Natimortalità
- Malformazioni congenite
- Sindrome da astinenza neonatale (SAN)
- *Distress* respiratorio
- Trombocitosi
- Minore frequenza di ittero (per precoce maturazione dell'enzima glicuronil-transferasi)
- Ritardo psicomotorio
- Ritardo di crescita
- *Sudden Infant Death Syndrome* (SIDS)

che omette i normali controlli ostetrici e vive in condizioni poco igieniche, sovente presenta anemia, ipertensione arteriosa ed infezioni di vario genere. Inoltre la promiscuità, le modificate abitudini sessuali e il non raro ricorso alla prostituzione, favoriscono l'insorgenza di infezioni trasmesse per via sessuale (epatite, AIDS, sifilide, malattia citomegalica, etc.). Infine la denutrizione e il diretto effetto degli oppiacei deprimono i meccanismi di difesa specifici e aspecifici.

**Problemi perinatali**

Il figlio di madre tossicodipendente può presentare una sintomatologia proteiforme derivante dall'azione diretta delle sostanze stupefacenti e dalla loro repentina interruzione, ovvero una serie di problemi correlabili con la frequente patologia infettiva ed ostetrica della madre (tab. V). Infatti il n. di madre tossicodipendente è più esposto alla asfissia perinatale, all'insorgenza di *distress* respiratorio, alla trasmissione di infezioni già contratte dalla madre (complesso TORCH [toxoplasmosi, rosolia, infezioni da citomegalovirus e da *Herpes simplex*], AIDS, epatite, etc.) e a tutti i possibili esiti di queste patologie (sindrome post-asfittica, ritardo psicomotorio, etc.). Il basso peso alla nascita, frequentemente riscontrato in questi soggetti, sembra conseguente all'effetto diretto degli stupefacenti anche se fattori associati possono contribuirvi (denutrizione materna, infezioni). Viceversa, la maggiore incidenza di malformazioni congenite non sembra riferibile ad un diretto effetto teratogeno delle droghe.

Il quadro clinico più significativo al quale il figlio di madre tossicodipendente è più esposto è la *sindrome da astinenza neonatale* (SAN) dovuta alla brusca interruzione dell'apporto del tossico conseguente alla nascita.

L'incidenza della SAN è elevata nei figli di madri eroino- e metadone-dipendenti, sebbene si riscontri talvolta anche in seguito alla interruzione di oppiacei meno potenti (codeina, pentazocina) o di depressivi non oppiacei (barbiturici, bromuri, benzodiazepine).

La SAN si presenta con un quadro clinico caratterizzato da segni di irritabilità del sistema nervoso centrale (ipereccitabilità, tremori, convulsioni, iperreflessia, ipertonia, cloni, suzione rabbiosa ma poco valida, pianto stridulo ad alta tonalità), disturbi gastrointestinali (vomito, diarrea) e respiratori (tachipnea, rientramenti), e vaghi sintomi neurovegetativi (sudorazione, starnuti, sbadigli, marezzature cutanee) e febbre.

Sebbene l'insorgenza del quadro clinico sia variabile (da poche ore a due settimane di vita), di solito i sintomi compaiono entro le prime 72 h di vita. Questa variabilità è in rapporto con il tipo di droga, il dosaggio usato e la durata di assunzione prima del parto, le modalità del travaglio, l'impiego di anestesia, la maturità e lo stato nutrizionale del n. In caso di madre eroino-dipendente l'esordio è in genere precoce (24-48 h di vita); se la gestante assumeva metadone o barbiturici la SAN si presenta più tardivamente (2ª-4ª settimana di vita). L'accumulo del tossico nei tessuti fetali o la sua ritardata escrezione possono spiegare la ritardata comparsa dei sintomi.

La SAN può essere lieve e transitoria o progressivamente crescente in gravità; monofasica, bifasica o multifasica; sembra essere più grave nei n. le cui madri hanno assunto quantità più elevate di sostanze tossiche e per un periodo prolungato. Se la gestante protrae l'assunzione fino a poco prima dell'espletamento del parto, la SAN è tardiva ma più grave.

La *diagnosi* si incentra su tre punti: l'anamnesi materna, il riconoscimento del quadro clinico e le indagini cromato-



Digitized by Google

grafiche sul sangue e sulle urine per l'identificazione dei metaboliti delle droghe assunte. È indispensabile un accurato *screening* infettivologico per la ricerca di eventuali infezioni trasmesse dalla madre (epatite, AIDS, sifilide, *herpes*, etc.).

**Trattamento della sindrome da astinenza neonatale (SAN)**

Molti agenti farmacologici sono impiegati nel trattamento della SAN: i più comunemente usati sono il *fenobarbitale* (5-12 mg/kg/*die* i. m. o *per os* fino a 20 mg/kg nei casi più gravi), il *metadone* (1 ml/kg × 3 somministrazioni/*die per os*) e il *paregorico*, oppioide contenente 0,4 mg/ml di morfina (0,05 ml/kg ogni 4 h *per os*). Il razionale per l'utilizzazione di questi farmaci si basa sul fatto che i sintomi dell'astinenza narcotica sono specificamente e progressivamente inibiti dalla sostituzione narcotica medesima. Il fenobarbitale è in grado di contenere i sintomi maggiori, quali l'irritabilità, l'insonnia e le convulsioni. Il paregorico consente di controllare i disturbi gastrointestinali senza deprimere la suzione; presenta però lo svantaggio di una somministrazione più protratta. Il metadone è selettivamente indicato nella SAN da oppiacei.

Il protocollo di trattamento si basa su un sistema di monitoraggio che utilizza un apposito punteggio (*abstinence score*): esso comprende una lista di 21 sintomi quantizzabili sia in rapporto alla loro presenza sia al grado di gravità con il quale compaiono. Il rilevamento ripetuto del punteggio consente di decidere quando introdurre il farmaco, quanto tempo il trattamento deve essere protratto e quando può essere temporaneamente o definitivamente interrotto.

Se il n. presenta depressione respiratoria causata da oppiacei, si usa il nalossone (0,01 mg/kg i. m. o e. v.) ripetibile ogni 5 min se necessario.

Al regime di detossicazione specifico va associato un *trattamento di sostegno*: limitazione delle stimolazioni ambientali (sonore, luminose e termiche), somministrazione di pasti frequenti (apporto calorico: 150-200 kcal/kg/*die*) e consentire l'allattamento materno solo quando la madre è sicuramente disintossicata ed esente da infezioni trasmissibili.

La *durata della terapia* nell'astinenza da eroina è in media di 4-6 settimane; nell'astinenza da metadone va invece prolungata fino a 4 mesi. Tuttavia sintomi variabili di irritabilità possono persistere ancora per mesi dopo la dimissione dall'ospedale: i pazienti possono presentare iperfagia, iperacusia, sudorazione, perdita di feci, ritmi irregolari del sonno.

Una volta che il n. di madre tossicodipendente ha superato i problemi clinici, restano da affrontare i *problemi sociali*, quali la possibile istituzionalizzazione, l'affidamento, l'adozione o il recupero nell'ambiente familiare.

**Bibliografia**

Finnegan L. P., *Neonatal Abstinence Syndrome*, in Nelson N. M. ed., *Current Therapy in Neonatal Perinatal Medicine*, 1990, **2**, Decker, New York, pp. 314-320.

Zacchello F., Giacinto C., *Il figlio di madre tossicodipendente: problemi clinici ed assistenziali*, in *Medico e Bambino*, 1990, **5**, 42-46.

FRANCESCO LAURENTI, SILVIA PATRIZI
E ANNABELLA BRAGUGLIA

## ITTERI E ANEMIE (X, 411)

SOMMARIO



**Terapia degli itteri neonatali**

*Introduzione*

La drastica riduzione dei casi di malattia emolitica del n. (MEN) nell'ambito del sistema Rh in seguito alla somministrazione di gammaglobuline anti-D, *postpartum* alle donne Rh-negative non immunizzate, ha spostato l'interesse dei neonatologi sull'ittero da MEN AB0, su quello del pretermine (sovente associato a deficit transitorio della glicuronil-transferasi), su quello da sepsi o da malattie infettive connatali (gruppo TORCH), sui casi precoci di sferocitosi congenita, di anemia mediterranea, di deficit di G6PD, su quello da steroidi nel siero o su quello più frequente da NEFA nel latte materno etc. Per quanto riguarda l'ittero fisiologico (v. NEONATO, X, 418) è da ricordare che tale etichetta è applicabile con sicurezza solo *a posteriori* e che secondo Odell non è accettabile quando: l'ittero è insorto nelle prime 36 h di vita; quando persiste oltre il 18° giorno (o 15 giorni nel pretermine); se la bilirubina [B] totale supera i 12 mg%ml (15 mg%ml nel pretermine); se la B coniugata supera 1,5 mg%ml; se l'incremento giornaliero è 5 mg%ml/*die*, e infine se coesiste uno stato anemico non spiegabile (Di Piero *et al.*, 1982).

Indipendentemente dalla etiologia dell'ittero, il compito del pediatra è quello di impedire che il tasso della B non coniugata, e soprattutto della frazione non legata all'albumina, possa raggiungere livelli dannosi per le cellule cerebrali. In relazione all'intensità dell'ittero si potrà ricorrere alla exsanguinotrasfusione, alla fototerapia, alla fenobarbitalterapia singolarmente o associate fra loro, aggiungendo inoltre la terapia specifica, come ad es. gli antibiotici per la sepsi o la lue, il salasso per la policitemia, la correzione dell'acidosi, etc.

*Exsanguinotrasfusione*

Il livello di 20 mg%ml di B non coniugata rappresenta il limite che indica, nell'ambito dei primi 2-3 giorni di vita, la necessità dell'intervento nel caso di n. a termine, mentre nel pretermine il rischio della cerebropatia bilirubinica si ha con tassi inferiori.

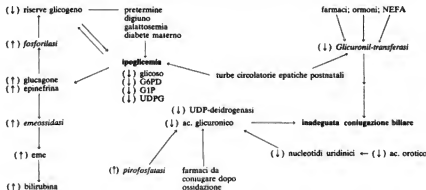
Pur tenendo presenti questi concetti è indispensabile che ciascun n. itterico sia esaminato prendendo in considera-

**TAB. VI. FATTORI DI RISCHIO DI DANNO CEREBRALE NEL PRETERMINE**
(da Di Piero *et al.*, 1982)

* Eventi di riscontro significativo nell'ittero neonatale secondo Kim *et al.* (1980).



Digitized by Google

**TAB. VII. MECCANISMI MENO ESPLORATI QUALI POSSIBILI CONCAUSE DI ITTERO NEONATALE**
(Di Piero *et al.*, 1982)

zione anche altri fattori fisiologici e/o patologici che sovrapponendosi fra loro possono aumentare l'entità del rischio costringendo ad anticipare la exsanguinotrasfusione ed eventualmente a ripeterla. Nella tab. VI (Di Piero *et al.*) sono esemplificati i fattori che aumentano il rischio di danno cerebrale nel pretermine e nella tab. VII (Di Piero *et al.*) sono ipotizzati tutti quei meccanismi correlati alla ipoglicemia che possono agire da concausa di ittero neonatale. Odell (1980) enfatizza l'importanza del glicoso quale precursore dell'ac. glicuronico necessario per la coniugazione della B: nel pretermine, nel diabete materno, per azione di alcune pirofosfatasi, per competizione con la B da parte di altri anioni o farmaci si può determinare riduzione dell'ac. glicuronico cui può seguire una inadeguata coniugazione della B.

*Fototerapia*

L'esposizione ad alta intensità di luce nello spettro del blu (fra 420 e 470 nm) è in grado di ridurre sia l'iperbilirubinemia che l'ittero cutaneo. La B depositata nella cute assorbe l'energia luminosa la quale mediante un processo di fotoisomerizzazione converte la B non coniugata tossica in isomeri non coniugati non dannosi che vengono escreti con la bile e con le urine; inoltre mediante processi di ossidazione si formano altri composti che sono escreti dal fegato e dai reni senza necessità di essere coniugati. Sono necessarie da 12 a 24 h per osservare l'effetto favorevole della fototerapia che può essere protratta in media da 1 a 3 giorni sotto continuo controllo, garantendo una caduta del tasso della B nettamente più accentuata rispetto ai n. non trattati. Nel prematuro con ittero non emolitico la B scende di 1-3 mg% dopo 8-12 h di esposizione. Pur non essendo stato dimostrato alcun effetto biologico indesiderato la fototerapia dovrebbe essere praticata in caso di effettiva necessità, perché effetti sfavorevoli sono stati dimostrati sul DNA *in vitro* (Kliegman e Behrman, 1987).

Per ottenere i migliori risultati debbono essere attentamente controllate sia le zone di esposizione cutanea, sia la distanza della lampada, nonché la quantità di energia luminosa emessa e la capacità di escrezione biliare del n.

Il controllo della B e dell'Ht sarà eseguito ogni 4-8 h nel pretermine con emolisi ed ogni 12-24 h nei n. più grandi. Tali controlli ematochimici sono necessari perché si può verificare una risalita del tasso di B con necessità di riprendere il trattamento e non ci si può più basare, per giudicare la gravità dell'ittero, sul controllo clinico cutaneo in quanto sotto fototerapia si può avere una cute roseo-pallida pur con una persistente iperbilirubinemia. Le complicanze della fototerapia sono costituite da feci liquide, eruzioni cutanee, disidratazione, ipotermia e dalla *bronze baby syndrome* caratterizzata da un colorito bruno-grigiastro persistente a lungo, osservabile soprattutto in n. che presentano contemporaneamente un aumento della B coniugata.

Nelle forme di ittero emolitico senza elevati tassi di B, trattate con fototerapia, si può avere più tardivamente uno stato anemico che talvolta richiede trasfusione con emazie concentrate.

*Fenobarbitalterapia*

Il fenobarbital favorisce la coniugazione e la escrezione della B e la sua somministrazione preventiva può ridurre l'entità dell'ittero fisiologico sia trattando la madre *prepartum* sia il n. alla nascita. Gli AA. americani (Kliegman e Behrman, 1987) non lo ritengono invece raccomandabile nel trattamento dell'ittero in quanto la sua azione è più lenta e meno efficace della fototerapia ed inoltre per l'effetto sedativo che può avere. Per la nostra esperienza un breve trattamento al dosaggio di 5 mg/kg/*die* può ridurre senza inconvenienti secondari il tempo di degenza del n. itterico.

**Terapia delle anemie del neonato**

Le anemie del n. sono clinicamente divisibili in precoci (prevalentemente immunologiche da MEN Rh o da gravi perdite di sangue *intra-* o *post-partum*) e tardive (da MEN AB0 e da sferocitosi congenita, da deficit di G6PD, etc.) in n. trattati o non trattati con exsanguinotrasfusione o con fototerapia (v. NEONATO, X, 424). Attualmente la tendenza a trasfondere è nettamente ridotta, ma in caso di necessità si dovrà procedere con trasfusioni di emazie concentrate di donatore familiare controllato, alla dose di 10 ml/kg, ricordando che per aumentare l'Hb di 1 g% occorre somministrare 2 ml/kg di emazie.





Digitized by Google

**Bibliografia**
Di Piero G. *et al.*, *Pediatria Oggi Med. Chir.*, 1982, **2**, 587.
Kim M. H. *et al.*, *Pediatrics*, 1980, **66**, 6.
Kliegman R. M., Behrman R. E., *Jaundice and hyperbilirubinemia in the newborn*, in *Nelson Text Book of Pediatrics*, 1987, Saunders, Philadelphia.
National Institute of Child Health and Human Development, *Pediatrics*, 1985, **75** (Suppl.), 385.
Odell G. B., *Neonatal Hyperbilirubinemia*, 1980, Grune & Stratton, New York, p. 52.

GIORGIO DI PIERO

**NERVO** [v. vol. X, col. 450]

## CHIRURGIA (X, 520)

Il trattamento chirurgico della neurotmesi di tipo III secondo la classificazione di Sunderland si pone come obiettivo il ripristino della continuità anatomico-funzionale dei fascicoli nervosi, indipendentemente dal calibro del tronco nervoso e dalla sede della lesione. Questa affermazione, frutto di recenti acquisizioni, amplia i concetti espressi da diversi AA. negli anni '70 (Tupper, 1979), secondo i quali la *neurorrafia fascicolare* trovava indicazioni quasi esclusivamente nelle lesioni di nervi di piccolo calibro. La metodica richiede, tuttavia, un notevole impegno da parte dell'*équipe* operatoria, un adeguato strumentario chirurgico, una buona esperienza e il rigoroso rispetto dei tempi tecnici.

L'esecuzione di una neurorrafia fascicolare necessita inevitabilmente dell'uso di mezzi ottici ausiliari, capaci di raggiungere almeno 20 ingrandimenti; vengono utilizzati materiali di sutura non riassorbibili di calibro 8/0-11/0. I tempi chirurgici preliminari sono fondamentali per la riuscita dell'intervento: i fascicoli sensitivi e motori devono essere individuati con precisione sulle due superfici di sezione in rapporto al loro calibro e al loro orientamento spaziale. Questa operazione può essere agevolata dal riconoscimento delle microstrutture vascolari che decorrono in vicinanza dei tronchi fascicolari. Studi di anatomia topografica, eseguiti su di un gran numero di sezioni nervose in sedi anatomiche definite, hanno permesso di costruire delle mappe nelle quali si identificano i gruppi fascicolari sensitivi differenziandoli da quelli motori e, nell'ambito di questi ultimi, si localizzano alcune delle fibre destinate ai singoli muscoli (Sunderland, 1981). È stato inoltre descritto un metodo istochimico (Gruber, 1976) che permette di differenziare i fascicoli motori dai sensitivi mediante l'uso di acetilcolinesterasi, capace di evidenziare esclusivamente le fibre motrici.

Numerosi AA. (Hakstian, 1968; Nakatsuchi, 1980) utilizzano una metodica elettrofisiologica basata sulla stimolazione individuale dei gruppi fascicolari prossimali e distali. La stimolazione distale produce nei fascicoli motori una risposta muscolare; ciò non esclude la presenza, nello stesso gruppo fascicolare, di fibre sensitive, esplorata stimolando in via retrograda le terminazioni sensitive e registrando i potenziali elettrici sul moncone distale. L'individuazione dei fascicoli sensitivi sul moncone prossimale richiede l'attiva collaborazione del paziente che risponderà positivamente alla loro stimolazione. Con l'ausilio di tali tecniche è possibile realizzare un corretto affrontamento tra i monconi nervosi.

Successivamente si procede all'asportazione della guaina epineurale per un tratto pari a circa il diametro del tronco nervoso su entrambi i monconi, all'isolamento dei singoli fascicoli e all'asportazione di eventuali tralci fibrosi cicatriziali. Nel realizzare la neurorrafia è necessario aver cura che non si creino trazioni eccessive, responsabili di alterazioni del calibro del tronco nervoso e che determinano una eccessiva formazione di cicatrice. Il primo punto viene passato dall'esterno all'interno, in modo da fuoriuscire in corrispondenza del centro del fascicolo prossimale; l'ago viene quindi infisso nel centro del fascicolo distale e fatto fuoriuscire dalla superficie esterna. È importante che la distanza tra il punto di infissione e il punto di uscita dell'ago sui singoli monconi sia analoga, affinché l'annodamento non determini un accorciamento a «fisarmonica» di uno dei due. L'operazione viene ripetuta per tutti i fascicoli.

Sebbene l'isolamento e la riparazione dei singoli fascicoli sia teoricamente possibile in tutti i casi, tuttavia, nella comune pratica chirurgica spesso si esegue una neurorrafia di gruppi fascicolari. Per es., per un n. di grosso calibro come il mediano al polso, l'enorme numero di fascicoli (circa 40) rende indaginosa ed eccessivamente lunga la sutura dei singoli fascicoli; al contrario, nella lesione di un ramo di calibro minore, per es. dei n. sensitivi distali, o in caso di sezioni parziali o di neuromi in continuità, l'interruzione di un minore numero di fascicoli ne rende più agevole l'individuazione e la sutura.

Il n. va quindi posizionato in tessuto amorfo così da ridurre la formazione di cicatrici perineurali. Recenti ricerche (Narakas, 1988) confermano la validità della metodica descritta da Matras nel 1972 che prevede l'utilizzo di fibrinogeno liquido attivato, posto tra i due monconi fascicolari, allo scopo di realizzare una sutura «biologica», sfruttando le particolari capacità di coesione della fibrina. Tale tecnica può, in taluni casi, essere associata a una microsutura fascicolare.

Un problema particolare si pone nel trattamento dei neuromi in continuità (Kline, 1972); si tratta di definire mediante l'esame clinico ed elettroneurografico percutaneo od eventualmente intraoperatorio (Badeschi, 1980) l'indicazione chirurgica alla resezione del neuroma seguita da neurorrafia o alla neurolisi interna. Se il neuroma, seppure doloroso, si associa a una reinnervazione sensitiva e motoria soddisfacente, l'intervento di neurolisi è generalmente indicato anche se tale metodica, specialmente se non eseguita in maniera meticolosa, può facilmente dar luogo ad un insuccesso. Quando invece il neuroma in continuità di fatto si associa a una ripresa sensitiva e motoria insufficiente è indispensabile ricorrere alla sua rimozione ed alla sutura dei monconi residui, il più delle volte interponendo un innesto nervoso.

Casi particolari di lesioni nervose traumatiche sono rappresentati dalle avulsioni radicolari del plesso brachiale. L'estrema difficoltà chirurgica nel reperire la struttura del moncone prossimale all'interno della tasca radicolare o, talvolta, all'interno del canale midollare, rende impossibile l'esecuzione di una neurorrafia. Si può ricorrere pertanto a metodiche alternative che, pur non essendo in grado di garantire i successi della neurorrafia diretta, determinano un sufficiente grado di recupero funzionale sensitivo-motorio. Si tratta delle cosiddette tecniche di *neurotizzazione* che prevedono la sutura fascicolare di un'afferenza nervosa intercostale o cervicale sul moncone distale del n. leso (Brunelli, 1980).

Il recupero funzionale sensitivo e motorio, dopo un intervento di neurorrafia, non dipende esclusivamente dal numero di assoni che attraversa il focolaio di sezione. Numerose ricerche sperimentali hanno dimostrato che una singola fibra nervosa rigenerata è in grado di compensare parzialmente la perdita di unità motorie che inevitabilmente fa seguito alla lesione nervosa periferica. Questo fenomeno, detto *sprouting* e che porta alla formazione di coni di crescita, consiste nella capacità dell'assone di ramificarsi distalmente e di innervare un maggior numero di placche motrici. Analoghe considerazioni possono essere fatte sulla reinnervazione periferica dei corpuscoli sensitivi.

L'evidenza di tale fenomeno è confermata da studi elet-

Digitized by Google

troneurografici eseguiti mediante misurazione della velocità di conduzione motoria e sensitiva dopo neurorrafia, i quali hanno dimostrato che esiste un'incongruenza tra i risultati dei test clinici e i valori riferiti dagli esami elettrodiagnostici. Clinicamente, infatti, il recupero funzionale risulta superiore a quanto prevedibile in base alle registrazioni elettriche, attraverso le quali è possibile quantificare la percentuale di fibre nervose transitate a livello della sutura, ma non misurare l'amplificazione distale del potenziale nervoso, ottenuta mediante il fenomeno dello *sprouting* (Messore, 1988).

**Bibliografia**

Bedeschi P., *Riv. Chir. Mano*, 1980, **17** (f. 2), 225.
Brunelli G., *Riv. Chir. Mano*, 1980, **17** (f. 2), 231.
Catalano F., *Riv. Chir. Mano*, 1982, **19** (f. 3), 467.
Corrado E. M., *Chirurgia e microchirurgia della mano*, 1989, Ed. Martinucci.
Gruber S., *Br. J. Plast. Surg.*, 1976, **29**, 70.
Hakstian R. W., *J. Bone Joint Surg.*, 1968, **50**, 1178.
Kline D. G., *Surg. Clin. North Am.*, 1972, **52**, 1189.
Matras K. G., *Wr. Med. Wschr.*, 1972, 37-517.
Messore L., *Riv. Chir. Mano*, 1988, **25** (f. 2), 237.
Nakatsuchi N., *The Hand*, 1980, **12**, 65.
Narakas A., *Orth. Clin. North Am.*, 1988, **1**, 187.
Sunderland S., *Orth. Clin. North Am.*, 1981, **1**, 2-245.

EZIO MARIA CORRADO E EZIO MORELLI

## NERVOSO SISTEMA [v. vol. X, col. 570]

SOMMARIO GENERALE



### FISIOLOGIA

SOMMARIO



#### Premesse

Recenti acquisizioni concernenti svariati argomenti del capitolo che ricade sotto la *Fisiologia del sistema nervoso* sono già state inserite nell'ambito dell'aggiornamento della voce CERVELLO*, *fisiologia*. Anche così, il capitolo da aggiornare resta di necessità molto vasto. Tra i numerosi argomenti da trattare, sono stati selezionati due grandi temi della neurofisiologia, *postura* e *prensione e manipolazione*, temi, a mio avviso, particolarmente importanti sia per il medico pratico che per lo studioso. Infatti, le nozioni di fisiologia a riguardo sono essenziali per la comprensione della fisiopatologia di molte sindromi motorie neurologiche. Inoltre, la loro trattazione offre l'opportunità di sviluppare concetti emersi recentemente sulla struttura gerarchica, distribuita delle funzioni del sistema nervoso, concetti di validità generale.

#### Postura

*Concetti introduttivi generali*

La postura (v.) del corpo deve essere considerata come il risultato di un sistema di controllo nervoso altamente integrato. Questo sistema utilizza una molteplicità di afferenze sensoriali e di riflessi sensori-motori e obbedisce a dei principi di organizzazione gerarchica. Esso incorpora un numero elevato di sotto-anelli interni di controllo che utilizzano informazioni visive, vestibolari e somatosensoriali. Perciò ciascuno di questi sotto-anelli interni possiede il suo proprio insieme di variabili in ingresso e in uscita da misurare e controllare.

Per *variabile controllata* si intende quella variabile che viene mantenuta il più vicino possibile al valore desiderato (per es., il termostato di uno scaldabagno mantiene la temperatura dell'acqua vicino al valore prefissato). Occorre distinguere tra due tipi diversi di azioni di controllo: 1) controllo ad anello aperto, in cui non viene misurato il valore effettivo della variabile controllata; 2) controllo con anello chiuso a retroazione negativa (*negative feedback* della letteratura anglosassone) in cui il valore misurato dalla variabile controllata viene confrontato con il valore desiderato e ogni discrepanza genera un segnale di errore. Nell'ambito del controllo nervoso, il riflesso vestibolo-oculare rappresenta un esempio di sistema ad anello aperto, poiché l'apparato vestibolare non misura la posizione dell'occhio (variabile in uscita del riflesso). Invece, il riflesso vestibolo-collico è un sistema ad anello chiuso, poiché l'apparato vestibolare misura la posizione della testa (variabile in uscita del riflesso). Il riflesso da stiramento muscolare (e il riflesso tendineo) è un altro esempio di sistema a retroazione negativa. Dunque, il controllo posturale incorpora sia anelli aperti che anelli chiusi.

Il concetto importante che riguarda il sistema posturale è che, ancorché questo incorpori numerosi sotto-anelli separati che controllano variabili differenti, l'azione coordinata del sistema, nella sua totalità, è volta a uno scopo globale; in altre parole, il sistema nel suo complesso controlla uno o più parametri globali che non necessariamente hanno a che vedere con le variabili dei sotto-anelli.

Si assume generalmente che la posizione del centro di massa del corpo rappresenti il parametro globale che viene controllato durante la stazione eretta (il centro di massa del corpo umano si trova nel tronco). In effetti, per mantenere l'equilibrio, gli uomini, come tutti gli animali, devono mantenere la *proiezione* del loro *centro di massa* (p.c.m.) all'interno dei limiti di sicurezza sulla superficie di supporto.

Tuttavia questa ipotesi classica è stata smentita da studi molto recenti, secondo i quali il sistema posturale controlla primariamente la posizione degli arti e del corpo nello spazio. La posizione del centro di massa verrebbe dunque a essere determinata in maniera subordinata. Queste due ipotesi non sono affatto equivalenti (come potrebbe sembrare a prima vista) poiché conducono a predizioni divergenti in condizioni particolari di equilibrio posturale.

*Primato del controllo della geometria degli arti*

L'equilibrio posturale può essere assimilato al prodotto finale dei processi nervosi di controllo che tendono a opporsi all'azione perturbatrice di forze esterne. In assenza di forze esterne al di fuori della gravità, un animale è statisticamente bilanciato quando la p.c.m. cade all'interno dell'area di appoggio (l'area al di sotto dei piedi). Perciò, come già accennato, si è assunto che la p.c.m. rappresenti la variabile controllata dal sistema nervoso centrale (S.N.C.) durante la postura. Effettivamente, la p.c.m. è mantenuta approssimativamente costante in una varietà di condizioni di equilibrio posturale. Tuttavia, anche la configurazione geometrica degli arti nello spazio (cioè l'orientamento dei segmenti articolari che compongono un arto) varia poco in condizioni di equilibrio posturale. Perciò, nelle normali condizioni di equilibrio, non è possibile determinare se la p.c.m. oppure la posizione degli arti siano direttamente controllate dal S.N.C.

Una verifica diretta di queste due ipotesi è stata fatta assai recentemente applicando un carico alla parte anteriore del corpo degli animali. In questo modo, veniva in-





Digitized by Google

dotta sperimentalmente una modificazione della distribuzione del peso tra gli arti anteriori e gli arti posteriori, e quindi la p.c.m. veniva spostata artificialmente in avanti rispetto alle condizioni normali. Orbene, l'ipotesi che la p.c.m. sia la variabile controllata dal S.N.C. prevederebbe che la perturbazione esterna fosse compensata modificando la geometria posturale in modo tale da ripristinare il valore desiderato di p.c.m. Al contrario, l'ipotesi che la geometria posturale sia primariamente controllata dal S.N.C. prevederebbe che la perturbazione esterna non fosse compensata, ma che la configurazione geometrica degli arti fosse mantenuta costante.

Sperimentalmente si trova che è vera la seconda ipotesi. Infatti, mentre la p.c.m. devia sostanzialmente dal valore di controllo (fino alla perdita dell'equilibrio in certi casi limite), la geometria posturale non muta. In particolare, la lunghezza e l'orientamento dell'asse degli arti sono i parametri geometrici che variano meno, anche quando cambia l'inclinazione della superficie di appoggio. La rilevanza strategica del primato del controllo della geometria posturale è altresì dimostrata dalla parallela penalizzazione degli sforzi muscolari richiesti. Infatti, il mantenimento della medesima geometria posturale in presenza di un abnorme carico sugli arti anteriori, comporta uno sforzo muscolare su quasi tutti i muscoli di questi arti, sforzo che viene mantenuto inalterato anche dopo prolungata esposizione al carico (24 h).

Questi studi dimostrano, dunque, che nella gerarchia del controllo posturale la conservazione della geometria posturale desiderata è privilegiata rispetto al mantenimento di una p.c.m. desiderata. Ai livelli più alti del controllo gerarchico troviamo le variabili globali che definiscono la configurazione geometrica dell'asse degli arti nello spazio esterno, vale a dire la lunghezza e l'orientamento rispetto alla verticale.

Questi due parametri costituiscono un sistema di riferimento egocentrico polare con l'origine delle coordinate alle estremità degli arti. Questo sistema di riferimento è normalmente ancorato all'invariante ambientale della verticale gravitazionale, come dimostrato dalla tendenza degli animali a mantenere l'asse principale degli arti all'incirca allineato con la verticale. La verticale è normalmente stimata usando una complessa combinazione di informazioni sensoriali: segnali labirintici gravito-inerziali, visivi e somatosensoriali (Jeannerod e Biguer, 1987). In effetti, l'inclinazione artificiale del campo visivo induce una sensazione soggettiva di rotazione della verticale, nonché modificazioni corrispondenti dell'orientamento degli arti fino alla perdita dell'equilibrio.

*Schema gerarchico del controllo posturale*

Lo schema di controllo gerarchico della postura dipende da vie nervose parallele con localizzazione centrale distribuita. Il controllo posturale gerarchico comprende due linee di flusso principali.

Una prima linea corrisponde a una struttura strettamente gerarchica sotto il primato del controllo della geometria degli arti e del corpo. Le variabili globali che descrivono la lunghezza e l'orientamento degli arti sono prescritte inizialmente dal S.N.C. e vengono successivamente trasformate nei valori appropriati degli angoli articolari mediante la loro covariazione planare. La geometria posturale desiderata determina in modo univoco sia le forze normali di contatto che la p.c.m. Il modello interno della geometria posturale corrisponde allo *schema corporeo* per la postura. Il problema del mantenimento dell'equilibrio è risolto obbedendo a questo schema corporeo. Esso, infatti, prevede in condizioni normali variazioni limitate della p.c.m. e quindi anche la stabilità posturale. Tuttavia, questa predizione può fallire in condizioni anomale, per es. in presenza di carichi esterni oppure di illusioni visive di movimento del mondo circostante. Nessuna correzione della geometria posturale può verificarsi in assenza di una corrispondente modificazione adattativa dello schema corporeo.

La seconda linea di flusso possiede una posizione distinta, eterarchica rispetto alla prima. Essa incorpora il controllo delle forze tangenziali responsabile dell'aggiustamento del margine di stabilità di una data postura, ottenuto mediante una ripartizione ben precisa degli sforzi muscolari di leva.

Infine, le coppie di forza totali esercitate dai muscoli alle singole articolazioni sono determinate dalla confluenza delle due linee di flusso. Tali coppie, infatti, dipendono sia dalla geometria posturale che dalle forze di contatto. La posizione subordinata delle coppie muscolari in seno al controllo gerarchico è piuttosto sorprendente, poiché le coppie rappresentano in effetti l'uscita diretta del sistema neuromuscolare.

*Significato del controllo gerarchico della postura*

Postura (v.) ed equilibrio (v.) sono spesso considerati concetti equivalenti, tant'è vero che in numerosi libri di testo la postura viene definita come la stabilizzazione del corpo contro la forza di gravità. In realtà, si tratta di due concetti interamente distinti. Infatti, l'equilibrio è compatibile con un'ampia gamma di posture diverse, ovvero di configurazioni spaziali diverse dei segmenti corporei. La ben nota esistenza di una postura standard, preferita, per ogni soggetto indica che i processi nervosi implicati nel controllo posturale impongono dei vincoli ben più forti del semplice mantenimento dell'equilibrio; questi vincoli portano alla riduzione del numero dei gradi di libertà di movimento del corpo.

La postura standard rappresenta una caratteristica peculiare di ciascuna specie animale. Se si confrontano le posture adottate da quadrupedi di taglia diversa, si può apprezzare una volta di più il primato del controllo della geometria posturale. Infatti, ancorché le condizioni di equilibrio stabile e di sforzo muscolare minimo siano molto simili nelle diverse specie, le posture adottate differiscono marcatamente. Alcuni animali privilegiano posture raccolte agli arti posteriori, guadagnando in manovrabilità e accelerazione relativa. Altri animali, invece, tendono ad adottare posture più allungate, allineando tutte le articolazioni con il vettore della forza di contatto con il terreno; essi tendono così a ridurre gli sforzi muscolari richiesti per l'equilibrio e le forze di taglio sostenute dalle ossa degli arti. È ovvio perciò che la postura, selezionata evolutivamente per ogni data specie, dipende da una complessa combinazione di fattori diversi, inclusi fattori biomeccanici e neurali.

Da tutto quel che si è detto, deve risultare chiaro che il S.N.C. controlla direttamente la postura e non l'equilibrio. Il sistema ha appreso che la postura preferita comporta automaticamente l'equilibrio stabile nella maggior parte delle condizioni. D'altra parte, non soltanto la postura normale si è evoluta in larga misura, in modo tale da contrastare efficacemente la forza di gravità per mantenere l'equilibrio, ma questa postura è anche organizzata in un sistema di riferimento che è ancorato alla direzione della gravità. Per es., l'orientamento dell'asse degli arti viene mantenuto costante rispetto alla direzione della gravità. Si deve poi notare che anche l'orientamento nello spazio del capo è stabilizzato rispetto alla verticale in molte condizioni posturali e locomotorie. La direzione della gravità viene continuamente misurata dagli organi otolitici dell'apparato vestibolare. Naturalmente, la postura standard che si sviluppa filogeneticamente e ontogeneticamente in tutti i mem-





Digitized by Google

bri di una data specie è poi soggetta a sottili ma chiare variazioni individuali, tanto che la postura individuale è stata definita la «firma con il corpo». La postura può quindi essere considerata come una sorta di *Gestalt* complessa, il cui significato deve essere cercato non solo nel mantenimento dell'equilibrio ma anche nel comportamento espressivo ed emozionale.

*Substrati nervosi del controllo posturale*

Ruolo e funzione dei diversi substrati nervosi e centrali del controllo posturale sono tuttora molto incerti. Molti centri nervosi sono implicati in quella organizzazione gerarchica, parallela e distribuita, che abbiamo descritto dianzi. Appare oggi verosimile che le reti locali gerarchicamente «basse» si trovino a livello del tronco cerebrale e del midollo spinale, mentre le stazioni «alte» si trovino a livello della corteccia motoria e premotoria, del cervelletto e dei nuclei della base.

A livello del midollo spinale cervicale sono stati descritti dei sistemi interneuronali propriospinali lunghi che vengono attivati mono- o disinapticamente dalle vie motorie discendenti, sia piramidali che parapiramidali. A livello della formazione reticolare del ponte di Varolio esistono invece neuroni colinocettivi la cui inattivazione selettiva con batanecolo (un agonista muscarinico) nell'animale sperimentale porta a disturbi posturali specifici.

Gli studi nell'animale sperimentale sembrano suggerire che i *patterns* posturali innati siano per così dire *hardwired* nei circuiti spinali e del tronco cerebrale, mentre l'integrità delle strutture corticali sarebbe necessaria per l'acquisizione di *patterns* nuovi. I circuiti di collegamento tra aree motorie, area supplementare, nuclei della base, cervelletto, da un lato, e midollo spinale e tronco cerebrale dall'altro, sono ben note da un punto di vista odologico (v. MOTORIO SISTEMA), però il loro ruolo nel controllo posturale resta ancora da chiarire.

**Prensione e manipolazione**

*Il problema della interazione meccanica*

Una grande parte dell'attività animale è volta alla esplorazione dell'ambiente circostante e alla interazione con esso. Prensione e manipolazione rappresentano nell'uomo una forma particolarmente specializzata di interazione meccanica pianificata con l'ambiente.

Prensione e manipolazione presentano svariati aspetti altamente caratteristici ed esclusivi rispetto ad altre forme di attività sensi-motorie umane. In generale, i movimenti di prensione richiedono, per essere efficaci, la corretta specificazione di due parametri molto diversi. Da un lato è necessario specificare la posizione del bersaglio sia rispetto al mondo circostante che rispetto alla posizione iniziale della mano prima che inizi il movimento; tale specificazione è richiesta al fine di intercettare correttamente nel tempo e nello spazio l'oggetto in causa. Dall'altro lato, è necessario specificare la rigidità della mano, vale a dire stabilire di quanto dovranno flettersi le dita intorno all'oggetto al fine di impartire la forza desiderata. È intuitivo, per es., che la rigidità alle dita dovrà essere ben diversa quando dobbiamo manipolare un mattone oppure un uovo.

Ancorché la nostra capacità di modulare e adattare la rigidità della mano a seconda delle proprietà degli oggetti da manipolare sia un fatto talmente evidente da apparire banale, banale non è dal punto di vista dei meccanismi di controllo che sono implicati. In effetti, la nostra comprensione di questi meccanismi è ancora troppo frammentaria per essere utilmente trasferita al campo della robotica e dell'intelligenza artificiale. I manipolatori robotici costruiti sinora dall'uomo, che pure possiedono ormai eccellenti capacità di controllo della posizione e della traiettoria di movimento, difettano gravemente proprio nella capacità di adattare la rigidità della «mano» artificiale a seconda delle necessità.

*Attività anticipatoria*

Appare intuitivo che un elemento fondamentale, nella programmazione della prensione e manipolazione di oggetti, sia rappresentato dalla capacità di predirne accuratamente le proprietà fisiche (quali massa, forma, etc.). Se poi l'oggetto da catturare è in movimento (come quando dobbiamo afferrare una palla che ci è stata lanciata), è necessario essere in grado di predire con esattezza anche l'istante di tempo e la velocità dell'impatto sulla mano.

È stato dimostrato recentemente che la programmazione dell'attività di prensione di una palla in caduta comporta dei *patterns* nervosi ben precisi. La registrazione dell'uscita degli α-motoneuroni sotto forma di attività elettromiografica mostra l'esistenza di una modulazione anticipatoria rispetto all'impatto sulla mano. Questa attività anticipatoria inizia ad un intervallo di tempo costante (circa 100 ms) prima del tempo previsto dell'impatto, qualunque sia la durata e l'altezza di caduta. Chiaramente, una temporizzazione così precisa richiede un'analisi in tempo reale dell'informazione visiva concernente la caduta della palla. È stato suggerito che l'informazione sul tempo di contatto possa essere derivata dal flusso ottico generato dalla dilatazione dell'immagine sulla retina. L'analisi centrale delle varie componenti del flusso ottico avverrebbe a livello delle aree MT ed MST della corteccia visiva extrastriata.

Se la temporizzazione dell'attività anticipatoria è legata alla stima del tempo di contatto, la regolazione della sua ampiezza è legata invece alla stima della quantità di moto della palla prevista per l'impatto. La quantità di moto è un parametro che può solo essere stimato mediante operazioni cognitive complesse. È verosimile che l'elaborazione delle attività anticipatorie, integrando opportunamente le informazioni sensoriali (visive e propriocettive), avvenga in maniera distribuita a livello delle aree corticali motorie e premotorie. Esiste in particolare una sottopopolazione di neuroni delle aree premotorie, la cui frequenza di scarica dei potenziali di azione è correlata non solo alla preparazione al movimento, ma anche alle sue caratteristiche spaziotemporali (ampiezza e direzione).

*Regolazione riflessa della prensione*

La prensione di oggetti le cui caratteristiche siano note in anticipo non si avvale solo di meccanismi di controllo volontario (quali le attività anticipatorie della sezione precedente) ma sfrutta, anche, le proprietà adattative dei riflessi propriocettivi. Infatti, è stato recentemente messo in luce un meccanismo di *gating* centrale del riflesso da stiramento, che viene azionato selettivamente per l'impatto. Si osserva infatti una inversione del segno delle risposte riflesse durante una finestra temporale limitata all'intorno (± 60 ms) dell'istante dell'interazione con l'oggetto. L'inversione delle risposte riflesse è presumibilmente dovuto alla chiusura temporanea dei circuiti spinali della inibizione reciproca degli α-motoneuroni di muscoli antagonisti (questi circuiti collegano disinapticamente le afferenze primarie dei fusi neuromuscolari agli α-motoneuroni dei muscoli antagonisti, mediante gli interneuroni inibitori della lamina VII di Rexed del midollo spinale). Contemporaneamente, si aprono i circuiti alternativi di coeccitazione degli α-motoneuroni che sono mediati da interneuroni eccitatori delle lamine V-VI di Rexed e che sono attivati sia dalle afferenze





Digitized by Google

primarie dei fusi che dalle afferenze degli organi tendinei del Golgi. Si tratta in entrambi i casi di circuiti riflessi molto rapidi, a breve latenza dallo stimolo. Il livello di eccitabilità degli interneuroni menzionati (e quindi il grado di apertura di una via rispetto ad un'altra) è regolato da vie discendenti sia dai neuroni propriospinali del centro cervicale di integrazione, sia dai sistemi piramidali e parapiramidali.

Il significato funzionale di questa inversione transitoria è quello di una modificazione fondamentale delle caratteristiche dell'anello di controllo riflesso. Normalmente, il circuito riflesso organizzato in base all'inibizione reciproca, opera controllando essenzialmente la posizione dell'arto, utilizzando degli anelli di retroazione negativa di posizione e velocità. Al momento in cui avviene il *gating* centrale con transizione alla modalità di coattivazione, il circuito riflesso opera controllando non più la posizione, ma la rigidità dell'arto. Infatti, la coattivazione di muscoli antagonisti produce forze muscolari di segno opposto, che tendono a cancellarsi; tuttavia, l'attivazione dei muscoli sinergisti produce un aumento della rigidità che si somma con quello prodotto dalla coattivazione dei muscoli antagonisti.

*Ruolo dei modelli interni della geometria dell'arto*

L'osservazione sorprendente è che l'inversione transitoria del riflesso durante la prensione non si accompagna a una massimizzazione della rigidità dell'articolazione sulla quale i muscoli direttamente agiscono, come sarebbe lecito attendersi, ma comporta invece la massimizzazione della rigidità della mano espressa nelle coordinate cartesiane dell'oggetto da prendere. La rigidità cartesiana della mano è un parametro complesso che dipende sia dal *pattern* di attività muscolare sia dalla configurazione geometrica dell'arto nello spazio. In altre parole, il medesimo *pattern* di attività muscolare può risultare in valori molto diversi di rigidità della mano in funzione della posizione dell'arto. Perciò, la massimizzazione della rigidità della mano all'istante dell'impatto suggerisce che il S.N.C. sia in grado di rappresentare internamente la rigidità desiderata e di trasformarla in *pattern* appropriati di attività muscolare in uscita.

La inevitabile conclusione che il *gating* centrale dei riflessi propriocettivi durante la prensione sia basato su un modello interno della geometria dell'arto è notevolmente eretica, dal punto di vista delle nozioni classiche sull'organizzazione e ruolo dei riflessi. Infatti, questa conclusione ci conduce ad ipotizzare un legame molto stretto tra due differenti domini del controllo nervoso, solitamente considerati separati e indipendenti l'uno dall'altro: il *dominio della pianificazione dei movimenti*, comprendente i modelli interni delle proprietà meccaniche dell'arto e dell'ambiente esterno, da un lato, e il *dominio del controllo riflesso del movimento*, operante su variabili locali muscolari, almeno secondo le vedute classiche. Chiaramente, i risultati esposti (e altri già riferiti nell'aggiornamento della voce CERVELLO*) sembrano suggerire che il controllo riflesso operi su variabili globali (come la rigidità della mano) e abbia accesso ai modelli interni dei livelli superiori di controllo.

Il ruolo della informazione propriocettiva nel mantenere modelli interni adeguati delle proprietà meccaniche dell'arto è stato anche dimostrato recentemente, studiando dei pazienti deafferentati per una neuropatia sensoriale delle fibre grandi. Si è visto che questi pazienti sono incapaci di compensare per l'anisotropia spaziale del momento di inerzia globale dell'arto e producono dei movimenti di raggiungimento di mire visive con errori fortemente dipendenti dalla posizione della mira. La vista dell'arto, anche temporanea, consente di correggere questi errori direzionali.

I substrati nervosi dei modelli interni della geometria dell'arto utilizzati per la prensione degli oggetti sono ancora da chiarire. La rappresentazione neurale della direzione del movimento è stata recentemente scoperta a livello dell'area motoria primaria e dell'area parietale posteriore (area 5 di Brodmann); questo parametro è codificato infatti accuratamente dalla scarica di tutta una popolazione neuronale. Tuttavia, studi recenti suggeriscono che rappresentazioni neurali della geometria dell'arto si possono trovare anche a livello di aree interneuronali del midollo spinale. Infatti, la microstimolazione di aree dorsali e intermedie della sostanza grigia del midollo spinale genera un campo di forze alla zampa dell'animale tendente verso un singolo punto di equilibrio. Ciò suggerisce che un modello interno della configurazione dell'arto nello spazio possa essere una proprietà emergente che risulta dall'attivazione appropriata di reti interneuronali spinali.

**Bibliografia**

Alstermark B. *et al.*, *Exp. Brain Res.*, 1990, **81**, 447.
Biewener A. A., *Science*, 1990, **250**, 1097.
Bizzi E. *et al.*, *Science*, 1991, **253**, 287.
Georgopoulos A. P. *et al.*, *Science*, 1986, **233**, 1416.
Horak F. B., Nashner L. M., *J. Neurophysiol.*, 1986, **55**, 1369.
Humphrey D. R., Freund H.-J. eds., *Motor Control: Concepts and Issues*, 1991, Wiley, New York.
Jeannerod M., *The Neural and Behavioural Organization of Goal-Directed Movements*, 1988, Clarendon Press, Oxford.
Kandel E. *et al.*, *Principles of Neural Science*, 1991, Elsevier, Amsterdam.
Lacquaniti F. *et al.*, *J. Physiol.* (London), 1990, **426**, 177.
Lacquaniti F., Maioli C., *J. Neurosci.*, 1989, **9**, 134 e 149.
Lee D. N., Reddish P. E., *Nature*, 1981, **293**, 293.
Macpherson J. M., *J. Neurophysiol.*, 1988, **60**, 204.
Massion J., *Prog. Neurobiol.*, 1991, in stampa.
Roberts T. D. M., *Neurophysiology of Postural Mechanisms*, 1978, Butterworths, London.
Stelmach G. E., Requin J. eds., *Tutorials in Motor Behavior II*, 1991, Elsevier, Amsterdam, in stampa.

FRANCESCO LACQUANITI

## TRAPIANTO DI CELLULE

SOMMARIO



### Introduzione

Il primo tentativo di trapianto dell'encefalo è storicamente attribuito al chirurgo russo V. P. Demikhov che nel 1962 effettuò con successo il trapianto della testa di un cucciolo di cane sul collo di un cane adulto; in tale preparazione il corpo del ricevente era stato usato come supporto del cervello del donatore al quale garantiva l'apporto circolatorio. La sopravvivenza ottenuta fu di un mese. Successivamente White trasferì la testa di una scimmia donatrice sul corpo di una scimmia «recipiente» la cui testa era stata rimossa a livello cervicale medio. Questo tentativo si rivelò un successo parziale in quanto l'animale visse solo tre giorni con supporto ventilatorio meccanico continuo.

Questi tentativi, invero pionieristici, stimolarono numerosi studi immunologici ed anatomo-patologici che dimostrarono come il tessuto cerebrale fosse un sito immunologicamente privilegiato, nel quale una varietà di tessuti, sia istocompatibili che istoincompatibili, potevano essere trapiantati senza reazioni di rigetto. Tale proprietà è in parte riconducibile alla presenza della barriera ematoencefalica che svolge un ruolo fondamentale nel prevenire il rigetto agendo come un ostacolo al passaggio di materiale potenzialmente sensibilizzante. Inoltre, l'assenza di un sistema



Digitized by Google

linfatico completamente sviluppato, contribuisce alla deficienza di risposte immunitarie cellulomediate da parte del tessuto cerebrale.

Se attualmente il trapianto dell'encefalo *in toto* si pone come improponibile, maggiori prospettive sono offerte dai «microtrapianti» di tessuto cerebrale in zone bersaglio carenti dal punto di vista anatomo-biochimico.

Una serie di modelli sperimentali di trapianto di tessuto cerebrale ha preceduto il trapianto nel morbo di Parkinson: trapianto di cellule retiniche e di globo oculare, trapianto di cellule colinergiche embrionali nell'ippocampo, trapianti neuroendocrini per la terapia ormonale sostitutiva, etc.

**Il trapianto nel morbo di Parkinson**

Il trapianto di cellule di origine neurale fu ideato inizialmente come pratica sperimentale adattata allo studio della capacità di rigenerazione e dello sviluppo delle cellule nervose. Questo razionale fu radicalmente modificato allorché diversi AA. rilevarono che alcuni deficit neurologici potevano essere migliorati da un trapianto di cellule di derivazione neurale, specialmente se queste erano di origine fetale. Questi concetti furono applicati principalmente al morbo di Parkinson.

*Modelli sperimentali*

I primi studi di interesse storico risalgono al 1890 quando W. Gilman-Thompson dell'Università di New York riportò i risultati di un esperimento condotto trapiantando frammenti di corteccia cerebrale di gatti adulti nel cervello di cani adulti. Dunn nel 1913 dimostrò poi per la prima volta che la sopravvivenza di *grafts* cellulari era superiore se messi a contatto con i plessi corioidei dei ventricoli laterali. Nel 1940 W. E. Le Gros Clark di Oxford osservò che cellule prelevate da feti possedevano un potere di attecchimento significativamente superiore. Nel 1957 Flerkò e Szentàgotai scoprirono che il sistema ventricolare era un ottimo sistema recipiente. Da questi studi risultava pertanto evidente che il tessuto fetale ed embrionale possedeva le caratteristiche migliori e che l'attecchimento del trapianto dipendeva da un'adeguata vascolarizzazione.

L'ultimo decennio è stato contrassegnato da un'attiva ricerca di adeguati modelli sperimentali di morbo di Parkinson in ratti e in primati con l'uso di 6-OHDA (6-idrossidopamina) (modello di Parkinson «rotazionale») e di MTPT (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina), una tossina utilizzata nella produzione di alcuni diserbanti che è in grado di produrre alterazioni anatomiche e comportamentali molto simili a quelle osservate nel morbo di Parkinson (v. PARKINSON, MORBO DI*). La standardizzazione di tali modelli ha consentito di affrontare più liberamente il problema del trapianto di cellule neurali a scopo terapeutico.

Le limitazioni dell'impianto di tessuto cerebrale embrionale sono soprattutto di ordine etico e pratico, legate alle risorse di donatori di tessuto. Tali limitazioni non sussistono nell'autotrapianto di midollare surrenale in cui anche eventuali problemi di rigetto sono evitati poiché il tessuto trapiantato è autologo. Le cellule cromaffini surrenali producono e secernono catecolamine; dopo l'attecchimento possono subire una trasformazione morfologica e sviluppare processi di tipo assonale, e sono in grado di innervare tessuto cerebrale cotrapiantato nella camera anteriore dell'occhio. Tali proprietà sono potenziate dalla contemporanea somministrazione di *nerve growth factor* (NGF) che è in grado di potenziare gli effetti funzionali e aumentare la sopravvivenza di tali cellule. Nel ratto tali trapianti hanno consentito la riduzione del comportamento rotazionale (equivalente sperimentale della sintomatologia del morbo di Parkinson) ed è stato possibile dimostrare una significativa sopravvivenza delle cellule cromaffini trapiantate, soprattutto nei trapianti effettuati per via intraventricolare, nei quali il liquor facilita la nutrizione del tessuto trapiantato. I trapianti intrastriatali di cellule della midollare surrenale hanno invece dato risultati negativi e scoraggianti (probabilmente per le modeste condizioni nutrizionali del parenchima) se paragonati a quelli ottenuti con la tecnica di trapianto intraventricolare dove il liquor cerebrospinale esercita la funzione di «mezzo di coltura» ideale; nei trapianti effettuati per via intrastriatale, infatti, si assiste alla morte delle cellule cromaffini entro poche ore dal trapianto con un effetto sul comportamento rotazionale di breve durata.

In alcuni studi, tuttavia, sono stati ottenuti effetti funzionali sul comportamento anche in casi associati a sopravvivenze cellulari di durata limitata; tale dato deve essere ricondotto all'importante ruolo esercitato dal danno tessutale dell'ospite, in grado di agire attraverso interazioni trofiche non correlate alla secrezione di catecolamine.

L'utilizzazione di sospensioni cellulari di *substantia nigra* proveniente da tessuto fetale ha radicalmente modificato le procedure sperimentali. Le tecniche stereotassiche di iniezione di sospensioni cellulari di *substantia nigra* fetale consentono di poter collocare il trapianto in qualsiasi parte dell'encefalo dell'ospite. Il trapianto nel *putamen*-caudato di sospensioni cellulari di *substantia nigra* fetale comporta una ripresa funzionale del deficit comportamentale a più rapida comparsa rispetto a quella che si ottiene con trapianto di cellule della midollare del surrene.

*I trapianti in pazienti parkinsoniani*

Nell'uomo sono state utilizzate due differenti metodiche di autotrapianto di cellule prelevate da midollare del surrene: la prima, eseguita per la prima volta da Backlund *et al.* al Karolinska Institute (Svezia), nel 1985, prevedeva il trapianto diretto di cellule nello striato con tecnica stereotassica, mentre, la seconda, sviluppata da Madrazo *et al.*, a Città del Messico, consisteva nell'intervento microchirurgico di trapianto di tessuto midollare surrenale fissato con *clip* metalliche sulla parete del ventricolo laterale. Da queste, ed altre esperienze, è emerso che il trapianto intrastriatale è in grado di arrecare solo un miglioramento transitorio della sintomatologia parkinsoniana (da una settimana a due mesi), mentre quello eseguito per via intraventricolare, a conferma dei dati precedentemente ottenuti a livello sperimentale, determina miglioramenti a lungo termine, primo fra i quali un aumento della durata di periodi *on* non accompagnati da discinesie (corea).

Madrazo, inoltre, ha sperimentato i primi trapianti di cellule di mesencefalo ventrale fetale e di midollare surrenale fetale nel nucleo caudato rispettivamente in 4 ed in 3 pazienti parkinsoniani; in particolare i riceventi cellule mesencefaliche hanno presentato un significativo miglioramento della rigidità, della bradicinesia, dell'equilibrio posturale e della mimica facciale, mentre i pazienti del secondo gruppo hanno mostrato miglioramento esclusivamente della rigidità e della bradicinesia. I vantaggi rispetto all'autotrapianto di cellule della midollare del surrene consistono nel fatto di eliminare un intervento a rischio nei soggetti debilitati (l'adrenalectomia) e di rendere eleggibili per il trapianto anche soggetti anziani con scarsa funzionalità surrenale rilevabile con dosaggio delle catecolamine sieriche.

Tuttavia, per l'impossibilità di condurre procedure sperimentali di «controllo» nell'uomo, è difficile distinguere l'effetto funzionale specifico esercitato dal *release* di dopamina da parte del tessuto trapiantato dall'effetto funzionale aspecifico da attribuire alla reazione del cervello ospite al danno tessutale con liberazione di sostanze ad azione trofica.





Digitized by Google

In generale, all'autopsia eseguita su pazienti deceduti dopo il trapianto non è stato possibile dimostrare la sopravvivenza di cellule cromaffini, anche nei casi nei quali si era assistito a sostanziale miglioramento clinico. Questo dato conferma l'importanza della «lesione» di per sé e del conseguente danno tessutale che contribuisce in modo sostanziale a determinare un effetto trofico diretto e un aumento degli effetti correlati alla liberazione locale di dopamina.

Nel prossimo futuro sono previsti studi clinici sulla somministrazione di NGF nei riceventi di trapianti intraparenchimali; inoltre, la scoperta che la deplezione di dopamina avviene in misura maggiore nel *putamen* rispetto al caudato indirizzerà verso tentativi di impianto di cellule cromaffini specificamente nel primo.

*Considerazioni di ordine etico*

Le problematiche relative all'utilizzo di tessuti di derivazione neurale per omotrapianti nell'uomo, e in particolare nel morbo di Parkinson, coinvolgono e generano importanti dubbi di natura etica e scientifica. Attualmente è opinione comune che i tentativi clinici abbiano superato i limiti imposti dai risultati degli studi sperimentali e che ulteriori studi effettuati sui primati siano indispensabili come guida a future applicazioni cliniche.

I vantaggi teorici del trapianto di cellule fetali dipendono dalla elevata capacità delle cellule provenienti dal mesencefalo fetale di autoreplicazione nello striato del ricevente. Tuttavia, questi vantaggi si scontrano con le difficoltà etiche e organizzative per il reperimento dei tessuti idonei al trapianto. Dal punto di vista etico la moratoria imposta dall'NIH (National Institute of Health) all'uso di tessuti fetali provenienti da aborti terapeutici per trapianti intracerebrali, sebbene sia stata considerata anacronistica dal punto di vista scientifico, tuttavia ha suscitato un grande interesse e un ampio dibattito che servirà almeno a risolvere le questioni etiche relative a questa procedura prima dell'intervento piuttosto che in sede legale dopo l'intervento. L'uso di linee cellulari ottenute *in vitro* potrebbe essere una soluzione sul piano strettamente etico, ma porterebbe con sé molti dei maggiori svantaggi insiti nelle tecniche di allotrapianto (reazione di rigetto ed encefalopatie autoimmuni). Sul piano etico, inoltre, è indubbio che i risultati degli studi clinici pilota devono essere valutati e controllati in modo approfondito specialmente per quanto riguarda i benefici a lungo termine. Attualmente i risultati dei trapianti di cellule della midollare del surrene appaiono molto modesti e inferiori ai rischi insiti nella complessa procedura chirurgica. L'istituzione di un Registro Generale dei Trapianti di cellule Adrenergiche e Fetali (GRAFT) negli U.S.A. sul piano etico appare molto importante per ottenere informazioni controllabili e valutare la potenziale morbilità e l'efficacia delle procedure.

L'etica individuale del neurochirurgo che si cimenta con tale genere di intervento deve inoltre tenere conto dei principi fondamentali che regolano ogni procedura chirurgica e in particolare le procedure di trapianto. La procedura sperimentale deve essere autorizzata da un Comitato Etico e i trattamenti convenzionali della condizione patologica del ricevente devono essere stati precedentemente applicati senza successo.

Il paziente, o un parente legalmente riconosciuto, deve infine fornire il consenso informato per la procedura a garanzia del principio dell'autonomia dell'individuo sulla quale si basa ogni codice di etica professionale.

**Bibliografia**

Backlund E. O., Granberg P. O., Hamberger B. *et al.*, *J. Neurosurg.*, 1985, **62**, 169.
Goetz C. G., Olanow C. W., Koller W. C. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1989, **320**, 337.
Kandel E. *et al.*, *Principles af Neural Science*, 1991, Elsevier, Amsterdam.
Madrazo I., Drucker-Colin R., Diaz V. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1987, **316**, 831.
Madrazo I., Franco-Bourland R., Ostrosky-Solis F. *et al.*, *Arch. Neurol.*, 1990, **47**, 1281.
Sladek J. R., Gash D. M., *J. Neurosurg.*, 1988, **68**, 337-351.
Schmidt R. H., Björklund A., Stenevi U., *Brain Res.*, 1981, **218**, 347-356.

DANIELA LOMBARDI E PAOLO GAETANI

## NERVOSO TESSUTO [v. vol. X, col. 627]

SOMMARIO



### TUMORI (X, 713)

**Linfomi primari**

La nosografia dei *linfomi primari* del S.N.C. è stata elaborata solo di recente, anche se la rassomiglianza con i linfomi extranervosi era già stata enunciata nel 1943 (Kinney e Adams, 1943). Già considerati *sarcomi a cellule reticolari* e *microgliomi*, rispettivamente negativi e positivi alla impregnazione argentica, sono stati successivamente valutati di natura istiocitaria e denominati *sarcomi reticolo-endoteliali* (Burstein *et al.*, 1963). Dal 1960 in poi questi tumori sono stati riconosciuti quali linfomi, classificati, insieme a quelli extracerebrali, sulla base delle caratteristiche dei linfociti, espresse durante il normale sviluppo e differenziazione. Sulla base delle immunoglobuline intracitoplasmatiche e degli antigeni di membrana, la maggior parte di essi mostra caratteristiche di cellule B (Lukes e Collins, 1975; Lennert, 1978).

I linfomi primari del S.N.C. vanno tenuti distinti da quelli *secondari* che sono invece localizzazioni cerebrali (meningee) di linfomi sistemici, anche se in un 10% di casi i linfomi cerebrali evolvono verso una forma sistemica.

Essi rappresentano lo 0,3-1,5% dei tumori intracranici (Schiffer *et al.*, 1987), ma la loro incidenza aumenta considerevolmente nei pazienti immunosoppressi, dopo trapianti cardiaci e renali, nelle infezioni da virus di Epstein-Barr, nella sindrome di Wiskott-Aldrich e in sindromi da immunodeficienza, ereditaria o acquisita. Pare che la loro incidenza sia aumentata dall'inizio del secolo.

Localizzati negli emisferi cerebrali, ma anche in fossa posteriore, i linfomi primari sono spesso multipli. Sono composti da elementi rotondeggianti, distribuiti a mosaico, spesso a manicotti perivascolari (fig. 1). I nuclei hanno forma diversa e le mitosi sono frequenti. Spesso alla peri-

Fig. 1. Aspetto istologico di un linfoma primario del S.N.C. Si notino gli elementi rotondeggianti distribuiti a mosaico e in sede perivascolare.





Digitized by Google

feria si accompagnano a quadri infiammatori perivasali, simulanti un'encefalite. Le cellule perivascolari sono separate da anelli di reticolina concentrici in rapporto alla rete vascolare. Immunoistochimicamente appaiono composti da cellule B, molto meno spesso da cellule T (Adams e Howatson, 1990).

Due teorie si contrappongono sulla loro patogenesi, anche se entrambe hanno in comune l'osservazione che questi tumori si sviluppano nello spazio avventiziale (Hochberg e Miller, 1988). Secondo alcuni AA. dei linfociti reattivi sarebbero attirati nel S.N.C. da un processo infettivo e qui, in seguito, diventerebbero neoplastici. Secondo altri studiosi la trasformazione neoplastica avverrebbe in un linfonodo o in un altro sito linfatico e il clone neoplastico potrebbe raggiungere il S.N.C. attraverso il sangue per le molecole di superficie specificatamente legantisi al tessuto nervoso, chiamate *homing molecules* (Gallatin *et al.*, 1983).

I linfomi cerebrali possono essere distinti in diversi sottotipi, secondo differenti schemi: quello di Lukes e Collins, quello di Kiel, quello della International Working Formulation (Dorfman *et al.*, 1982). I vari sottotipi non sono coincidenti nei vari schemi, ma grossolanamente possono essere distinti in linfomi di basso e alto grado di malignità.

Un cenno a parte meritano i linfomi epidurali e soprattutto quelli in corso di AIDS. I primi possono essere più o meno differenziati, ma in genere hanno un basso grado di malignità e rispondono bene alla radioterapia. I secondi, dopo la toxoplasmosi, rappresentano la seconda causa di focalità neurologica (Levy *et al.*, 1985). Sono più difficilmente subclassificabili, perché molto polimorfi, ed hanno una prognosi peggiore.

Il trattamento di scelta dei linfomi è quello neurochirurgico che, tra l'altro, rappresenta l'unica possibilità di fare la diagnosi con certezza. Esso non influenza la prognosi. L'uso dei corticosteroidi è d'obbligo e talora questi possono dare sorprendenti temporanee riduzioni della massa tumorale. La radioterapia è molto efficace consentendo mediane di sopravvivenza di 4-15 mesi (Murray *et al.*, 1986), con una sopravvivenza del 55% ad un anno e del 32% a due anni. Le dosi in genere sono contenute nell'ambito dei 50-55 Gy. Anche la chemioterapia può essere efficace (De Angelis *et al.*, 1990), essendo il metotrexate ad alte dosi il farmaco più efficace: 100% di sopravviventi ad 1 anno e 40% a 2 anni (Gabbai *et al.*, 1990).

**Bibliografia**


Adams J. H., Howatson A. G., *J. Clin. Pathol.*, 1990, **43**, 544.
Burstein S. D., Kernohan J. W., Uilhein A., *Cancer*, 1963, **16**, 289-305.
De Angelis L. M., Yahalom J., Heinemann M.-H. *et al.*, *Neurology*, 1990, **40**, 80.
Dorfman R. F., Burke J. S., Berard C. W., *A working formulation of non-Hodgkin's lymphomas: background, recommendations, histologic criteria, and relationship to other classifications*, in Rosenberg S. A., Kaplan H. S. eds., *Malignant Lymphomas: Etiology, Immunology, Pathology, Treatment*, 1982, Academic Press, San Francisco.
Gabbai A. A., Hochberg F. H., Linggood R. M. *et al.*, *J. Neurosurg.*, 1989, **70**, 190.
Gallatin W. M., Weissman I. L., Buchter E. C., *Nature*, 1983, **304**, 30.
Hochberg F. H., Miller D. C., *J. Neurosurg.*, 1988, **68**, 835-853.
Kinney T. E., Adams R. D., *Arch. Neurol.*, 1943, **50**, 552-564.
Lennert K., *Malignant Lymphomas Other than Hodgkin's Disease*, 1978, Springer, Berlin.
Levy R. M., Bredsen D. E., Rosenblum M. L., *J. Neurosurg.*, 1985, **62**, 475-495.
Lukes R. J., Collins R. D., *Br. J. Cancer*, 1975, **31** (Suppl. II), 1-28.
Murray K. J., Kun L. M., Cox J., *J. Neurosurg.*, 1986, **65**, 600-607.
Schiffer D., Chiò A., Giordana M. T. *et al.*, *Tumori*, 1987, **73**, 585-592.


DAVIDE SCHIFFER

## NERVE GROWTH FACTOR (X, 733)

SOMMARIO



### Introduzione

Il destino differenziativo delle cellule in un organismo superiore viene determinato dalla mutua interazione tra il programma genico delle cellule e dei fattori epigenetici prodotti localmente, da cellule vicine, o in altre sedi dell'organismo e messi in circolo. La rivoluzione introdotta dalla scoperta del *fattore di crescita nervoso* (NGF; *nerve growth factor*) è consistita proprio nell'aver identificato, per la prima volta, una proteina in grado di modulare il differenziamento morfologico e funzionale delle sue cellule bersaglio, nel caso specifico neuroni periferici di gangli simpatici e sensitivi.

Tra i primi effetti descritti del NGF c'è quello trofico, che consiste nel permettere la sopravvivenza di cellule sensitive e simpatiche in coltura. Tale funzione non è limitata alle condizioni di coltura *in vitro*, ma è svolta anche *in vivo*, come dimostrato inequivocabilmente da esperimenti di immunosimpatectomia. In breve, la somministrazione all'animale immaturo di anticorpi diretti contro il NGF, con conseguente neutralizzazione di tale molecola, porta ad una quasi completa distruzione del sistema simpatico stesso. Allo stesso modo, neuroni simpatici periferici vanno incontro a degenerazione e morte se sono deprivati di NGF in altri modi (simpatectomia chimica e chirurgica).

Accanto a questa funzione *trofica* del NGF, la sperimentazione successiva ne ha messo in rilievo altre due, una *differenziativa* e una *tropica*. Esempio della prima è l'acquisizione di un fenotipo neuronale da parte di cellule cromaffini immature esposte a NGF. Le cellule cromaffini (derivate dalla cresta neurale e localizzate nella parte midollare della ghiandola surrenale) normalmente, sotto l'effetto di ormoni corticosteroidi, si differenziano in cellule specializzate per la sintesi e il rilascio di adrenalina. La somministrazione di NGF *in vivo*, come *in vitro*, antagonizza la azione dei corticosteroidi e induce le cellule cromaffini a produrre noradrenalina e ad assumere una morfologia neuronale. Il ruolo tropico del NGF, a sua volta, è dimostrato dalla crescita direzionale, sia *in vitro* sia *in vivo*, di fibre nervose di cellule bersaglio verso una sorgente di NGF. Di conseguenza, la produzione locale di tale fattore ha l'effetto di far sopravvivere le cellule bersaglio e di dirigere la crescita dei loro assoni, facilitando in tal modo la formazione di contatti sinaptici corretti.

Di recente, l'applicazione di metodologie sperimentali avanzate a studi di neurobiologia ha rivoluzionato, in parte, le nostre conoscenze sul NGF e ha aperto nuove eccitanti prospettive. In particolare l'uso di sonde molecolari specifiche (anticorpi policlonali e monoclonali e cloni di cDNA) ha evidenziato la presenza di NGF e del suo recettore sia nel S.N.C., anche nell'animale adulto, sia in cellule non nervose, per es. i mastociti e i linfociti B. Questi ultimi presentano recettori ad alta affinità per il NGF e concentrazioni fisiologiche della proteina ne inducono la divisione mitotica. Un altro esempio di espressione «non canonica» di NGF e del suo recettore è fornita dalla presenza di NGF nelle gonadi maschili di mammiferi adulti; inoltre, l'mRNA per il recettore è espresso in sottopopolazioni cellulari dei testicoli in opportune condizioni sperimentali (ipofisectomia).

Con ogni probabilità, quindi, lo spettro d'azione del NGF è assai più ampio di quanto si pensasse all'inizio ed è





Digitized by Google

possibile che tale proteina svolga un'azione modulatrice su alcune funzioni neuro-immuno-endocrine.

Il coinvolgimento di un singolo fattore proteico in risposte complesse e disparate non è un caso unico. Per es., la *tachichinina* (sostanza P) agisce come neurotrasmettitore e svolge un ruolo importante in alcune risposte infiammatorie.

Le nostre conoscenze sul NGF costituiscono la punta di un iceberg anche da un altro punto di vista. Da tempo era stata ipotizzata l'esistenza di molecole NGF-simili. Dato che solo un numero ristretto di neuroni nel sistema nervoso periferico e centrale beneficiano dell'azione trofica di tale fattore, era prevedibile che neuroni che non rispondono al NGF dipendano per il loro differenziamento e crescita da altre molecole neurotrofiche. Gli studi più recenti hanno permesso una verifica sperimentale di tale ipotesi. Simili per struttura e funzione al NGF, e quindi probabilmente discendenti da uno stesso gene ancestrale duplicatosi e diversificatosi nel corso della evoluzione, sono il *BDNF* (*brain derived nerve growth factor*) e l'*HDNF*, o NT-3 (*neurotrofina 3*). Il BNDF è stato isolato e purificato dal cervello e la conoscenza della sua sequenza aminoacidica è stata la base per isolare il cDNA corrispondente. Un'analisi comparativa tra NGF e BDNF, poi, ha permesso di identificare sequenze maggiormente conservate da cui sono state dedotte una serie di sonde molecolari utilizzate per isolare il cDNA del HDNF/NT-3. La somiglianza tra le tre proteine è così elevata che esse competono per il legame allo stesso recettore (recettore a bassa affinità per il NGF); tuttavia ciascuna dimostra un suo caratteristico andamento spazio-temporale di espressione nell'animale ed esercita, *in vivo* e *in vitro*, azioni trofiche e differenziative su distinte popolazioni neuronali. La specificità d'azione di ciascun fattore è mediata in parte dall'esistenza di recettori ad alta affinità distinti, specifici per ciascuno di essi.

Inoltre, è assai probabile che esistano altri membri della famiglia NGF non ancora descritti. Tali proteine, definite collegialmente come *neutrofine*, avrebbero un ruolo importante nel generare e mantenere l'architettura del S.N.C. e periferico collaborando con altri fattori strutturalmente distinti (per es. il *FGF*, *fibroblast growth factor*; il *CNTF*, *ciliary neurotrophic factor*), ma che esercitano anch'essi funzioni differenziative e trofiche.

**Biosintesi**

Il gene del NGF è stato individuato sul cromosoma 17.

Il clonaggio del cDNA completo codificante per il NGF e il successivo isolamento del corrispondente clone genomico hanno fornito informazioni sulla struttura e la sintesi di tale fattore aggiuntesi ai risultati sperimentali già ottenuti con studi di biosintesi in colture d'organo. Questi ultimi sono stati compiuti, quasi esclusivamente, utilizzando come sistema sperimentale la ghiandola salivare del topo adulto che, per ragioni che tuttora sfuggono, produce quantità rilevanti di tale fattore e di altri fattori di crescita peptidici come l'*EGF* (*epidermal growth factor*). Inoltre, per ragioni altrettanto oscure al momento, la sintesi del NGF e dell'EGF nella salivare è sotto il controllo degli ormoni steroidei, cosicché la ghiandola salivare del topo maschio adulto, o della femmina trattata con testosterone, ne contiene almeno un ordine di grandezza in più che quella della femmina non trattata, o del topo neonato. Come tutte le proteine secrete, il NGF è prodotto come un precursore contenente nella porzione $NH_2$ terminale una sequenza idrofobica che viene rimossa al momento della traslocazione del polipeptide attraverso il reticolo endoplasmatico. Ulteriori processamenti proteolitici della molecola portano alla forma matura denominata beta-NGF, di p. m. di circa 13.000 d. Nella ghiandola salivare, il NGF si trova sotto la forma di dimero (due catene beta associate non covalentemente tra loro) complessato con altre due coppie di catene polipeptidiche (alfa e gamma) la cui funzione non è stata definita con certezza, ma che probabilmente hanno un ruolo nella maturazione e/o nella conservazione del beta-NGF nella salivare. È da notare che il corretto processamento del NGF avviene anche in assenza di alfa e di gamma. Cellule in coltura, che non esprimono le subunità alfa e gamma e in cui il cDNA codificante per il NGF è stato introdotto in vettori plasmidici adatti per la espressione, secernono NGF biologicamente attivo.

A parte il caso, per molti aspetti singolare, della ghiandola salivare, si pensa in genere che nell'embrione e nell'animale adulto il NGF venga prodotto in piccole quantità dalle cellule innervate da neuroni che rispondono al NGF stesso. In tal modo, il doppio fenomeno di competizione per una quantità limitata di fattore e di chemiotropismo con crescita direzionale della fibra nervosa lungo un gradiente di concentrazione di NGF, servirebbe a favorire la formazione dei corretti contatti sinaptici.

**Recettori per il NGF**

Un ruolo centrale nella risposta delle cellule bersaglio al NGF è occupato dal suo recettore specifico (NGF-R) deputato a legare tale proteina e a iniziare la cascata di eventi che determina la risposta biologica. Per maggior semplicità sperimentale, gran parte degli studi sulle proprietà del recettore del NGF, e più in generale sul suo meccanismo di azione, sono stati compiuti *in vitro* utilizzando linee cellulari. Di conseguenza, l'estrapolazione dei risultati ottenuti alla situazione *in vivo* necessiterà di una serie di controlli e ulteriori investigazioni. In particolare, non è del tutto da escludere, in vista dell'ampio spettro di azione del NGF, che diverse cellule bersaglio possano utilizzare meccanismi biochimici differenti nella risposta a tale fattore. Pur con questi caveat, difficilmente sarà sopravvalutata l'utilità degli studi compiuti nel corso degli ultimi anni utilizzando come sistema modello colture di linee cellulari.

Tra le linee utilizzate, un ruolo essenziale per gli studi funzionali del recettore hanno assunto le cellule denominate PC12 derivate da un feocromocitoma di ratto. Queste cellule, sotto molti punti di vista, somigliano ai precursori comuni alle cellule cromaffini e ai neuroni simpatici e assumono il fenotipo differenziato di quest'ultimi in presenza di NGF. L'isolamento e la caratterizzazione biochimica del recettore si sono a loro volta avvantaggiati dall'esistenza di linee tumorali (melanomi sia murini sia umani) che esprimono un numero eccezionalmente alto di recettori (circa 1.000.000 di recettori per cellula invece dei circa 50.000 presenti in genere in cellule che rispondono al NGF). La purificazione parziale del recettore umano e murino e la conseguente produzione di anticorpi monoclonali contro esso diretti hanno fornito i prerequisiti necessari per la identificazione e isolamento di cloni di cDNA e cloni genomici corrispondenti alla proteina.

L'analisi della sequenza del cDNA ha fornito una serie di informazioni utili sulla struttura putativa del recettore. In particolare il p. m. predetto per il NGF-R è di circa 45.000 d (modificazioni postraduzionali quali glicosilazioni danno luogo ad una molecola matura di circa 75.000 d). La proteina presenta una singola regione che attraversa la membrana citoplasmatica e la porzione intracellulare del recettore non ha omologia di sequenza con alcuna proteina finora descritta. In particolare, a differenza dei recettori per altri fattori di crescita, non possiede domini che possano suggerire una sua attività come proteinchinasi. Esiste un alto grado di conservazione tra NGF-R sequenziati: pollo, ratto e uomo, soprattutto nella regione che interagisce con





Digitized by Google

il NGF e nella porzione centrale della molecola che contiene la regione transmembrana. Ciò suggerisce un ruolo essenziale di quest'ultima nella risposta biologica. Con tecniche di genetica inversa, in seguito, cloni di cDNA e genomici del NGF-R sono stati fatti esprimere in linee cellulari che di per sé non sintetizzano il recettore endogeno.

Questi studi hanno portato a un paradosso apparente che solo di recente è stato chiarito. Il recettore espresso ectopicamente infatti è in grado di legare il NGF ma solo con un'affinità relativamente bassa (dell'ordine del nanomolare). In contrasto con questo dato, le cellule che rispondono al NGF mostrano accanto al legame a bassa affinità, anche un legame ad alta affinità (dell'ordine di un centesimo di nanomolare). Inoltre, studi effettuati sia in PC12 sia in colture primarie di neuroni simpatici e sensitivi avevano da tempo stabilito che la presenza di recettori ad alta affinità è necessaria e (per la maggior parte delle risposte) sufficiente per mediare l'effetto del NGF. Effettivamente il recettore ectopicamente espresso non è in grado di mediare alcun effetto del NGF con l'unica notevole eccezione del recettore inserito in mutanti di PC12 difettivi per l'espressione del gene endogeno.

L'insieme di questi dati aveva portato a formulare la seguente ipotesi: una sottopopolazione delle molecole del recettore per il NGF espresse sulla superficie cellulare sarebbe in stretta associazione con una proteina (specificamente espressa nelle cellule responsive) che, a sua volta, sarebbe responsabile della trasduzione del segnale e di conferire l'alta affinità di legame. Questa ipotetica proteina, che si potrebbe considerare come una seconda subunità del recettore ad alta affinità, inoltre, sarebbe indispensabile per discriminare tra NGF, BDNF, NT-3 e altre eventuali neurotrofine appartenenti alla famiglia. Come menzionato precedentemente queste proteine si legano altrettanto bene al recettore a bassa affinità, ma ciascuna possiede recettori distinti che lo legano ad alta affinità. Cellule di PC12 che non esprimono il recettore endogeno sintetizzerebbero questa ipotetica seconda subunità e quindi il recettore reinserito darebbe luogo sia al legame a bassa sia al legame ad alta affinità. L'associazione di un recettore con una molecola intracellulare che ne modula l'affinità per il legante è già stata descritta in vari casi. Nei linfociti T, due recettori denominati CD4 e CD8 interagiscono dal lato citoplasmatico della membrana cellulare con una proteina (*p56lck*) e solo a seguito di tale interazione legano con alta affinità il loro ligante.

I risultati più recenti dell'indagine sperimentale hanno fornito un quadro leggermente diverso da quello prospettato dimostrando che, in effetti, esiste un secondo recettore strutturalmente del tutto differente da quello già identificato e clonato. Tale recettore, prodotto del proto-oncogène *trk* è una molecola di p. m. intorno ai 140.000 d, che possiede una porzione extracellulare in grado di legare il NGF e una porzione intracellulare con omologia di sequenza con le tirosinchinasi (enzimi in grado di favorire la fosforilazione in tirosina di varie proteine). Anche *trk* lega il NGF con un'affinità dell'ordine del nanomolare, ma l'interazione tra quelli che possono essere definiti i due recettori dà origine al legame ad alta affinità e al complesso biologicamente attivo. L'avere identificato *trk* come uno dei recettori per il NGF ha almeno due conseguenze importanti. Da una parte, rende probabile che membri distinti della famiglia di *trk* possano essere coinvolti nel formare i siti ad alta affinità per le altre neurotrofine della famiglia del NGF (sono state descritte due proteine con forte omologia con *trk* chiamate *trkB* e *trkC*). D'altra parte, suggerisce un possibile meccanismo molecolare per la trasduzione del segnale dovuto al legame del NGF. In effetti, la maggioranza dei fattori di crescita conosciuti esercitano la loro attività attraverso recettori intrinsecamente dotati di attività di tirosinchinasi e di conseguenza, alla luce di questi nuovi risultati, anche il caso del NGF sembra ricondursi a quello che ormai si sta affermando come un paradigma nell'azione dei fattori di crescita.

**Meccanismo d'azione**

In generale può essere utile considerare un semplice schema che puntualizza i passi della risposta di una cellula a fattori di crescita, siano essi ad azione mitogenica o differenziativa.

Si tratta di 5 passaggi successivi: 1) il fattore si lega al recettore sulla superficie cellulare; 2) il recettore attivato interagisce dal lato citoplasmatico della membrana con una serie di proteine dotate di varie attività enzimatiche che generano i così detti secondi messaggeri; 3) i secondi messaggeri attivano varie vie metaboliche e, generalmente, modulano l'attività di fattori di trascrizione presenti nella cellula bersaglio e cioè in ultima analisi l'espressione genica; 4) i fattori di trascrizione inducono la sintesi di una serie di proteine nuove precedentemente non presenti o presenti in basse quantità (i così detti «geni precoci»); 5) una gran parte di tali geni precoci, essi stessi fattori di trascrizione, sono responsabili di modulare l'espressione di altri geni, i cui prodotti contribuiscono a conferire il fenotipo differenziato (nel caso di fattori come il NGF) o a indurre la divisione cellulare (nel caso di fattori mitogenici).

In qualche punto della rete di eventi biochimici descritti, un ruolo fondamentale è svolto spesso da una delle proteine generalmente note come *proto-oncogèni*, che quando inappropriatamente attivate (in genere da una mutazione che ne modifica sottilmente qualche proprietà) contribuiscono alla trasformazione neoplastica (in questo caso si parla di *oncogèni* invece che di proto-oncogèni). Dato che la crescita tumorale può essere considerata in parte come un sovvertimento delle regole che sopraassiedono alla crescita normale e al normale differenziamento cellulare, un coinvolgimento dei proto-oncogèni nel meccanismo di azione dei fattori di crescita era postulabile a priori. In realtà solo gli studi sperimentali degli ultimi anni hanno permesso l'affermazione di questo principio fondamentale. In particolare sono stati descritti oncogèni che sono versioni mutate di fattori di crescita o dei loro recettori, altri che derivano da mutazioni a carico di proteine coinvolte nella trasduzione del segnale e altri, infine, che sono quei fattori di trascrizione che normalmente mediano la regolazione genica modulata dal legame dei fattori di crescita in cellula bersaglio.

Una conseguenza pratica dell'aver compreso il coinvolgimento dei proto-oncogèni nel meccanismo di azione dei fattori di crescita è che nel corso degli ultimi anni una impressionante mole di studi è stata compiuta sugli oncogèni proprio in vista della loro importanza nella crescita dei tumori e quindi una serie di conoscenze derivate da tali studi è servita a chiarire alcuni aspetti dell'azione dei fattori di crescita.

Tornando al caso specifico del NGF le conoscenze attuali permettono di riempire solo parzialmente e con molte lacune lo schema precedentemente accennato. La scoperta recente che il proto-oncogène *trk* dotato di attività di tirosinchinasi contribuisce a formare il recettore ad alta affinità per il NGF, ha posto le basi per una comprensione del meccanismo di trasduzione del segnale. Solo evidenze preliminari sono a tutt'oggi disponibili su come il recettore attivato dal legame con il NGF interagisca con altre pro-





Digitized by Google

teine nel lato intracellulare della membrana citoplasmatica, ma alcune ipotesi possono essere avanzate mutuando le conoscenze da altri recettori con attività di tirosinchinasi. Si assume in genere che i recettori distribuiti all'inizio omogeneamente sulla membrana cellulare siano indotti dal legame con il ligante a formare microaggregati, nei quali una molecola di recettore fosforila delle tirosine critiche di altre molecole di recettore a essa vicine (transfosforilazione). I recettori così modificati sono in grado di interagire con una serie di proteine dotata di attività catalitica (per es. fosfolipasi che generano metaboliti attivi da fosfolipidi) o che modulano l'attività di altre proteine dotate a loro volta di attività catalitica. Questo primo passo di amplificazione del segnale porta alla generazione di secondi messaggeri quali il cAMP (attivatore della proteinchinasi A), il diacilglicerolo (attivatore della proteinchinasi C) l'inositolo 3-fosfato (che risulta in un aumento del calcio intracellulare a sua volta responsabile dell'attivazione di varie chinasi e proteasi). Tutti questi secondi messaggeri ed altri ancora sono stati implicati, pur con qualche controversia tra i vari ricercatori, nel mediare la risposta delle cellule al NGF ed è assai probabile che una opportuna combinazione delle vie metaboliche attivate da tali secondi messaggeri risulti nella risposta specifica delle cellule al NGF.

Un nodo cruciale nella risposta differenziativa delle PC12 è costituito dall'attivazione in serie di due proto-oncogèni denominati *src* e *ras*. Il primo è una tirosinchinasi; il secondo, probabilmente, modula la funzione di altre chinasi. La loro importanza nell'azione del NGF è dimostrata non solo dal fatto che versioni trasformanti di tali geni espresse in PC12 conferiscono un fenotipo neuronale maturo, ma soprattutto dal fatto che microiniezioni nelle cellule di anticorpi contro *src* o *ras* bloccano il differenziamento indotto dal NGF stesso. Mentre una visione completa del ruolo di queste e altre proteine nel processo differenziativo delle PC12 è lungi dall'essere definita nei dettagli, è pur vero che si sono poste le basi per uno studio sperimentale di tale problematica.

In un arco di tempo dell'ordine delle decine di minuti successivi al legame del NGF al suo recettore, si osserva, come già detto, la trascrizione di un certo numero di geni (i geni immediati). In un certo senso, la trascrizione dei geni immediati è uno specchio dell'attivazione dei secondi messaggeri. Infatti, nel DNA genomico che codifica per questi geni vi sono regioni regolatrici che legano fattori di trascrizione, la cui funzione è modulata dai variati livelli dei secondi messaggeri. Esempio tipico è il proto-oncogène *fos* che in 300 coppie di basi precedenti il punto di inizio della trascrizione possiede sequenze capaci di legare fattori attivati dalla proteinchinasi A, fattori attivati dalla proteinchinasi C e fattori attivati da chinasi calcio-dipendenti. L'attivazione della trascrizione di *fos* da parte del NGF (come pure della maggior parte dei geni immediati) è un fenomeno massiccio (il livello del corrispettivo mRNA varia di oltre due ordini di grandezza) e transiente. Dato che un gran numero dei geni immediati codifica per proteine che singolarmente o associandosi tra loro costituiscono esse stesse fattori di trascrizione è generalmente assunto che il loro ruolo consista nel promuovere (o reprimere) la trascrizione di quei geni di «seconda generazione», i cui prodotti contribuiscono alle funzioni del neurone; nel caso specifico, per es., a funzioni legate alla crescita dei neuriti, alla eccitabilità elettrica, alla secrezione dei neurotrasmettitori.

**Conclusioni**

I meccanismi descritti, miranti a evidenziare la modulazione della espressione genica da parte del NGF, sono con ogni probabilità più rilevanti nell'effetto differenziativo di tale fattore che in quello trofico o tropico descritti nella introduzione. Una nostra maggior comprensione del primo fenomeno rispetto ai secondi dipende essenzialmente dall'aver trovato nelle cellule PC12 un buon modello per lo studio *in vitro* della induzione del differenziamento. Modelli per lo studio delle proprietà trofiche e tropiche del NGF sono al presente mancanti e di conseguenza le conoscenze relative a questi due fenomeni sono ancora in gran parte lacunose.

È assai probabile, comunque, che alcuni meccanismi molecolari attivati dal NGF nel processo di differenziamento svolgano un ruolo anche nel tropismo e nel trofismo. Inoltre, anche se manca una evidenza diretta, un'ipotesi generalmente accettata sostiene che in questi processi di rigenerazione e crescita della fibra svolga un ruolo fondamentale il fenomeno di internalizzazione e trasporto retrogrado del NGF dalla terminazione dell'assone verso il corpo cellulare.

Data l'importanza di questi processi nella soluzione di malattie gravi degenerative del S.N.C., specialmente durante l'invecchiamento, è fuori dubbio che in un prossimo futuro gli studi sperimentali su questi aspetti dell'azione del NGF saranno potenziati di pari passo con i primi tentativi dell'impiego di NGF nella terapia. È opportuno ricordare, infatti, che NGF è prodotto nel S.N.C. (nella corteccia, nell'ippocampo e in minor quantità nell'ipotalamo) e che proprio quei neuroni colinergici che vanno incontro a degenerazione durante la malattia di Alzheimer posseggono recettori per il NGF (e li mantengono per tutto l'arco della vita dell'animale). Altre evidenze sperimentali sottolineano la potenziale importanza terapeutica di tale fattore. È stato possibile dimostrare, per es., che iniezioni intracerebrali di NGF nel ratto prevengono la degenerazione chirurgicamente indotta di discrete aree colinergiche del cervello. Infine, con un approccio sperimentale analogo alla immunosimpatectomia, è stato provato di recente che deprivando il cervello di NGF, tramite l'iniezione di anticorpi, si diminuisce il contenuto di colina-acetil-transferasi, enzima chiave nella sintesi del neurotrasmettitore acetilcolina.

La consapevolezza recente della esistenza di una famiglia di neurotrofine allarga, ovviamente, il campo dei potenziali bersagli per un intervento terapeutico, una volta che quantità massicce di tali fattori siano prodotte (presumibilmente tramite tecniche di biologia ricombinante) e siano stati risolti i problemi connessi con la somministrazione farmacologica di queste molecole.

Per finire, è opportuno ricordare che la sintesi del NGF e del BDNF in specifiche sottopopolazioni neuronali del cervello sembra essere regolata dall'attività neuronale. Questo dato, se confermato, ha importanti implicazioni sia teoriche sia pratiche: da una parte suggerisce un nuovo ruolo delle neurotrofine come modulatrici della trasmissione degli impulsi nervosi; dall'altra permette di ipotizzare che i livelli di tali molecole neurotrofiche possano essere controllati, a prescindere da una diretta somministrazione, con farmaci che, agendo sulla trasmissione nervosa, ne controllino la biosintesi.

**Bibliografia**

Hamburger V., Levi-Montalcini R., *Exp. Zool.*, 1949, **111**, 457-501.
Hempstead B. K., Martin-Zanca D., Kaplan D. R. *et al.*, *Nature*, 1991, **350**, 678.
Levi-Montalcini R., *Science*, 1987, **237**, 1154.
Levi A., Alemà S., *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 1991, **31**, 205.
Thoenen H., *TINS*, 1991, **14**, 165.

ANDREA LEVI





Digitized by Google

## NESIDIOBLASTOSI

F. *nesidioblastose*. - I. *nesidioblastosis*. - T. *Inselzellentumor*.

Dopo la prima descrizione nel 1954 della *sindrome da ipoglicemia persistente*, ad opera di McQuarrie, il capitolo dell'iperinsulinismo nell'infanzia ha suscitato una notevole mole di studi e ricerche che hanno portato a precisare le varie cause della sindrome e a definire per ciascuna condizione di iperinsulinismo il protocollo diagnostico e terapeutico, quanto mai semplice nella ipoglicemia cosiddetta transitoria, quanto mai complesso invece nella nesidioblastosi. La n. (dal greco *nesidion* = isola e *blastos* = germe), la più importante causa di ipoglicemia persistente nel primo anno di vita (oltre il 70%), deriva da una eccessiva proliferazione di cellule insulari, prevalentemente di quelle β, a partenza dall'epitelio dei dotti pancreatici ed estesa a tutta la ghiandola. Accanto a questa forma diffusa di n. alcuni AA. ne descrivono una forma localizzata denominata *nesidioblastoma*.

Le ipoglicemie del neonato e del lattante colpiscono il 2-3% dei nati vivi e costituiscono dal 2,2 al 18% delle cause di ricovero. Il comune denominatore dei vari tipi di affezione è costituito dalla bassa concentrazione del glicoso (< 0,30 g/l nel sangue intero; < 0,35 g/l nel plasma e nel siero), responsabile nei casi conclamati di danni neurologici permanenti quando l'ipoglicemia non viene trattata in modo tempestivo ed efficace. Il rischio è alto nelle prime settimane di vita quando è massimo lo sviluppo del sistema nervoso centrale.

Tra le diverse forme di ipoglicemia solo una piccola parte è di pertinenza chirurgica e comprende quelle causate da adenoma delle cellule β, iperplasia delle isole di Langerhans, iperplasia delle cellule β, adenomatosi, carcinoma pancreatico e, appunto, da n.

Dopo una prima descrizione istologica nel 1971 ad opera di Yakovac, ulteriori contributi ne hanno fissato, grazie a colorazioni appropriate (aldeide-fucsina e pinacianolo metacromatico), la caratteristica presenza di cellule insulari, singole o a piccoli gruppi, a sede interacinosa o a sede intertubulare, a contatto o vicino alle isole di Langerhans, mentre le più recenti indagini istochimiche ne hanno fornito ulteriori dettagli individuando l'esistenza di almeno 4 tipi di cellule (β, α, δ e PP) nel seguente costante rapporto: β = 62%, α = 21%, δ = 9%, PP = 8% (v. PANCREAS, *pancreas endocrino*, XI, 764).

I meccanismi fisiopatologici dell'affezione non sono ancora completamente chiariti anche se si ammette trattarsi di una anomalia della regolazione basale dell'insulina, legata ad una cattiva integrazione funzionale delle isole di Langerhans.

La *diagnosi* si basa soprattutto sulle indagini di laboratorio che comprendono la determinazione ripetuta della glicemia, quella basale quantitativa della insulina plasmatica, la determinazione degli acidi grassi liberi (FFA) e la determinazione degli idroidrossibutirrati (BOB) e dell'insulina in corso di crisi ipoglicemiche con glicemia < 30%; altri esami sono la cortisolemia, la GHemia e, infine, alcuni test quali quello al glucagone, il test alla leucina, il test al fruttoso, il test alla tolbutamide e la risposta alla terapia con diazossido.

In pratica, però, la diagnosi certa di iperinsulinismo si può fare con glicemia tra 25 e 30 mg %, insulinemia > 12 U./ml, FFA ≤ 0,46 m*M*, BOB < 1,1 m*M* e, infine, con la negatività del test al glucagone.

Le indagini strumentali (arteriografia selettiva, ecotomografia anche intraoperatoria, TC, RMN) sono poco utili e servono solo a escludere le affezioni di tipo tumorale (insulinomi, etc.) che si presentano con una sindrome ipoglicemica. Al contrario, il cateterismo transepatico della vena splenica con il prelievo di sangue regionale per la determinazione dell'insulina potrebbe essere molto utile se la tenera età del bambino non controindicasse questa indagine notevolmente invasiva.

I *segni clinici* della n. sono quanto mai vari, ma s'imperniano soprattutto sui disturbi di tipo neurologico (convulsioni localizzate o generalizzate, tremori, ipotonia, flaccidità, coma). In pratica, la malattia va sospettata ogni qualvolta un'ipoglicemia inferiore a 40% si accompagna a segni neurologici e a ipochetonemia e iperinsulinemia in corso di ipoglicemia.

Per quanto riguarda la *terapia* molti ritengono che il primo approccio sia di natura medica e preveda, oltre ai provvedimenti generali per risolvere la ipoglicemia e gli eventuali danni da essa provocati (perfusione intravenosa lenta di glicoso al 10-20% [6 mg/kg/min] o perfusione rapida di glicoso al 25%; idrocortisone 15 mg/kg, alimentazione enterale precoce, anche continua), la somministrazione di vari tipi di farmaci, tra i quali il *diazossido* (5-10 [e sino a 15-20] mg/kg *per os*) è certamente il più efficace in quanto inibisce il rilascio dell'insulina dalle cellule beta, mentre restano ancora *sub judice* altri farmaci quali la *somatostatina*, l'*octeotride*, la *streptozotocina*. Tale approccio però, tranne pochi casi, generalmente fallisce per cui si deve far ricorso all'intervento chirurgico.

Il *trattamento chirurgico* consiste nell'asportazione della ghiandola pancreatica per l'80-90% del volume. Ciò prevede un'adeguata sorveglianza del paziente da parte dell'anestesista nel corso dell'intervento stesso (valutazione continua dei parametri neurologici, controllo periodico del tasso glicemico, somministrazione preoperatoria di diazossido endovena [5 mg] associata a infusione di soluzione glicosata).

I tempi operatori consistono — dopo laparotomia trasversale sopraombelicale — nella mobilizzazione del duodeno con la manovra di Kocher e quindi nell'ispezione e nella palpazione del pancreas alla ricerca di eventuali localizzazioni adenomatose la cui assenza è generalmente probante per la diagnosi di n. Il pancreas viene poi mobilizzato da sinistra a destra sino alla giunzione tra vena mesenterica superiore e vena splenica, legando le sue connessioni vascolari con la vena splenica al fine di preservare la milza. Dopo un prelievo di sangue portale per l'insulinemia basale si reseca il pancreas insieme al suo processo uncinato in corrispondenza delle origini delle arterie pancreatico-duodenali. Se il controllo dell'insulinemia, dosata sempre sul sangue portale, dimostra ancora valori elevati si può procedere ad una ulteriore asportazione di tessuto sino anche al 95%.

L'intervento va completato con una colangiografia di controllo per verificare l'integrità della via biliare principale che alcuni AA. preferiscono profilatticamente incannulare. Infine, suturati i dotti pancreatici sezionati, si drena la loggia pancreatica.

Se dopo l'intervento l'iperinsulinismo riprende, l'orientamento attuale comprende una terapia preliminare con diazossido, e, più tardi, la pancreasectomia residua, ripristinando la via biliare o con un reimpianto della ampolla o con una coledoco-digiunostomia. Non mancano complicanze intra- o postoperatorie che vanno dalle lesioni della via biliare principale alle fistole pancreatiche ed alla pancreatite acuta. Anche la splenectomia programmata o di necessità deve essere considerata una grave complicanza visti i rischi infettivi della splenectomia in età pediatrica.

La prognosi della malattia, a parte la mortalità operatoria piuttosto elevata (intorno al 15% da una revisione della letteratura italiana), è buona per quanto concerne la rispo-





Digitized by Google

sta dei tassi glicemici (con una glicemia normale nel 90%) mentre lascia a desiderare circa lo stato neuropsichico, con un ritardo di sviluppo nel 31% e la persistenza di crisi convulsive nel 27%. Ne consegue la necessità di una diagnosi precoce per una terapia chirurgica tempestiva evitando terapie farmacologiche che a lungo andare possono risultare pericolose perché non mettono a riparo il bambino da danni neurologici permanenti.

**Bibliografia**
Carcassonne M., Delarne A., Le Tourneau J. N., *J. Pediatr. Surg.*, 1983, **18**, 75.
Esposito G., *X Cong. Soc. It. Endocrinochirurgia, 1990, Cagliari.*
Leggio A., Guglielmi M., *Rass. It. Chir. Ped.*, 1983, **XXV**, 281.
Salerno M., Franzese A., Nunziata L. *et al.*, *Riv. It. Ped.*, 1988, **14**, 740.
Vane D. W., Grosfeld J. L., West K. W., *J. Pediatr. Surg.*, 1989, **24**, 771.

GIOVANNI ESPOSITO

## NEUROBLASTOMA

F. *neuroblastome*. - I. *neuroblastoma*. - T. *Neuroblastom*. - S. *neuroblastoma*.

SOMMARIO



### Embriogenesi e caratteri generali

Il *neuroblastoma* [NB] appartiene al gruppo di neoplasie che originano dalle creste neurali. Queste formazioni primitive sono costituite da cordoni cellulari ectodermici, successivamente colonizzati da elementi neuroepiteliali migrati dal mantello del primitivo tubo neurale, come precursori dei futuri neuroblasti. Le creste neurali compaiono ai lati della placca neurale verso il 18° giorno di vita intrauterina, sotto forma di due formazioni longitudinali che, similmente ai somiti, vanno incontro a rapida segmentazione. Da questi organi metamerici deriveranno, oltre ai neuroblasti delle radici posteriori dei nervi spinali, i melanoblasti, le cellule di Schwann e delle leptomeningi ed i neuroblasti dell'ortosimpatico.

I neuroblasti simpatici, che derivano dai metameri toracici per un processo di migrazione dorsoventrale, costituiranno: la catena dei gangli laterovertebrali cervicali, toracici e lombosacrali, i gangli preaortici (mesenterici e del tripode celiaco), i plessi viscerali intramurali, la midollare delle ghiandole surrenali, piccole zolle di tessuto cromaffine, a sede ectopica, di solito dislocate lungo l'aorta e l'arteria mesenterica superiore.

In ciascuna di queste sedi, quindi, potrà svilupparsi un NB, le cui cellule avranno tre imprevedibili possibilità evolutive:

a) *maturazione* verso la forma benigna (*ganglioneuroma*), passando attraverso la forma intermedia di *ganglioneuroblastoma* (2% delle descrizioni);

b) *regressione*, fino alla scomparsa spontanea (forme ben documentate, anche se eccezionali);

c) *progressione* fino alla forma disseminata (IV stadio).

Da una cellula ancora meno differenziata, la cellula neuroepiteliale, deriverebbe un tipo particolare di tumore, il *Primitive Neuroectodermal Tumor* (PNET) con caratteristiche cliniche e biologiche alquanto diverse dal NB. Al contrario, dalla cellula gangliare matura può derivare il *ganglioneuroma* (fig. 1), tumore con caratteristiche di benignità (tab. I).

Questi richiami embriologici, oltre a definire la «carta di identità» del NB, ci permettono di intuire due caratteristiche essenziali:

a) l'inquadramento nelle neurocristopatie (come proposto da Bolande nel 1974), accanto al morbo di Hirschsprung, e ad alcune sindromi (Klippel-Feil, Von Waardenburg, Beckwith-Weidemann, alcolica-fetale) (tab. II);

b) l'appartenenza biologica al sistema APUD (*Amine Precursor Uptake and Decarboxylation*), in quanto il NB è un tumore delle creste neurali con capacità secretiva ormonale.

Il NB rappresenta la più frequente neoplasia solida dell'infanzia a sede extracranica. Tra le neoplasie addominali viene al secondo posto dopo il tumore di Wilms (v. NEFROBLASTOMA*). Globalmente occupa, come incidenza percentuale, il quarto posto, dietro alle leucemie, ai linfomi e ai tumori del S.N.C. Un nuovo caso di NB compare ogni 7000-10.000 nati e vi è una lieve prevalenza del sesso maschile, nel rapporto di 1,5:1. Quest'incidenza non sembra modificarsi in relazione alle diverse aree geografiche. Infine, è stato notato che particolari condizioni, non ben codificate, coincidono con una distribuzione anomala della neoplasia: ad es., esiste un aumento di frequenza dei NB multicentrici in bambini nati da madri con meno di 20 anni o con più di 34 anni.

Nel 50% delle forme diagnosticate il paziente ha meno di due anni e nel 90% non supera gli otto anni di età. Rari sono i NB riscontrati negli adolescenti ed eccezionali quelli osservati nel secondo e terzo decennio.

Ben descritti in letteratura sono i casi di NB familiare, le cui analisi dimostrerebbero un criterio di ereditarietà di tipo autosomico dominante. Attualmente, il modello invocato per spiegare l'«etiologia» dei casi ereditari comprenderebbe l'anomalia di un gene cellulare recessivo omozi-

TAB. I. DIFFERENZIAZIONE DEL NEUROECTODERMA DELLE CRESTE NEURALI E DERIVAZIONE DEGLI ONCOTIPI

TAB. II. NEUROCRISTOPATIE (NEUROBLASTOMA-MORBO DI HIRSCHSPRUNG): SCHEMA DI UNA COMUNE EMBRIOGENESI

**Cellule della cresta neurale**

| *Sistema simpatico* | | *Sistema parasimpatico* |
|---|---|---|
| Gangli autonomici | Midollare surrene | Gangli enterici intramurali |
| Proliferazione neoplastica | | Difetto di migrazione |
| Neuroblastoma | | Aganglionosi colica |





Digitized by Google

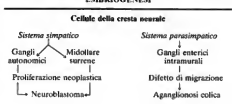
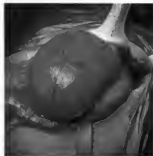
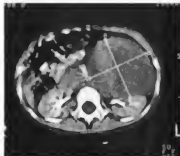



Fig. 1. Bambina di 6 anni di età: ganglioneuroma addominale. *A sinistra*: angio-TC. Voluminosa neoformazione che occupa l'ipocondrio sinistro e raggiunge, oltrepassandola, la linea mediana (13 × 9 × 7,5 cm). Il rene sinistro è compresso ma non infiltrato e lo stomaco è dislocato anteriormente. *A destra*: fotografia intraoperatoria della neoplasia, ben delimitata da una capsula fibrosa, di aspetto uniforme e forma ovalare, delle dimensioni di 14 × 9 cm. Peso: 480 g. Si ricorda che il NB presenta invece una pseudocapsula, sottile e discontinua, e un atteggiamento infiltrante nei confronti delle strutture contigue.

gote, che si esprimerebbe nei seguenti eventi consequenziali:

1) delezione o mutazione di un allele *suppressor*, in fase prezigotica;

2) inattivazione o perdita del gene omologo sul cromosoma fratello;

3) in assenza di ambedue gli alleli, il proto-oncogène (possibilmente l'*N-myc*), che normalmente promuove un'attiva replicazione e/o differenziazione cellulare, si esprime in maniera disorganizzata, determinando (ipotesi) una proliferazione anomala dei neuroblasti ed una differenziazione cellulare alterata: tumorigenesi.

Come già osservato, le localizzazioni di questo tumore sono assai varie: il 75% dei NB ha sede addominale (figg. 1 e 2), più spesso sinistra (surrenalica nel 50%, gangliare nel 25%), il 20% mediastinica (figg. 3, 4 e 5; il 6% di queste forme ha anche un tratto intrarachideo) e il 5% è situato a livello cervicale (v. sotto, fig. 6) e pelvico. Distinguendo due gruppi di età, rispettivamente inferiore e superiore all'anno, possiamo osservare alcune significative differenze nella localizzazione (tab. III).

Sedi rare o eccezionali sono quella renale, cerebrale, olfattoria (*estesioneuroblastoma*) e placentare. Il NB congenito infatti è capace di un'invasione-infiltrazione della placenta, con secondaria idrope fetale e sintomi quali *flush* cutanei e ipertensione nelle madri durante la gravidanza. Occasionalmente un NB è stato riscontrato incluso quale componente ectodermica di un teratoma trifillico.

Alcuni studi eseguiti su un gruppo di bambini di età inferiore a 3 mesi, deceduti per cause non neoplastiche, hanno riscontrato un'incidenza di 1 caso di NB *in situ* su 100/200 autopsie, probabilmente riferibile a residui di simpatoblasti presenti nel surrene fetale. Il significato ed una eventuale evoluzione di queste particolari localizzazioni, sono tuttora sconosciute. Tuttavia, il NB *in situ* deve essere sempre ben separato da quei noduli neuroblastici che comunemente sono presenti nel surrene fetale e che, embriologicamente, potrebbero essere paragonati, nel rene, ai noduli di nefroblastematosi.

**TAB. III. SEDE DEL TUMORE IN GRUPPI DI ETÀ DIVERSA**

| Sede | < 1 anno | | > 1 anno | |
|---|---|---|---|---|
| Addome | Surreni<br>Gangli | 37%<br>18% | Surreni<br>Gangli | 55%<br>20% |
| Torace | Mediastino posteriore | 33% | Mediastino posteriore | 16% |

**Manifestazioni cliniche**

Differentemente dal tumore di Wilms o nefroblastoma, il NB è un tumore astenizzante e i bambini si presentano spesso anemici e in condizioni generali scadute. Nella maggior parte dei casi il NB appare alla palpazione come una massa addominate solida, a superficie molto irregolare, spesso a estensione centrale od oltrepassante la linea mediana che intraoperatoriamente si dimostra ipervascolarizzata e dotata di una pseudocapsula friabile. Anche questi caratteri sono quindi diversi dal nefroblastoma (v.*), in cui la superficie tumorale è liscia e la massa ha, quasi sempre, sede monolaterale. Alcuni sintomi, quali il calo ponderale, il dolore, la distensione addominale, l'iperpiressia, possono essere presenti anche se del tutto aspecifici. L'anemia, ove riscontrata, è più spesso attribuibile ad un'invasione del midollo osseo che si osserva nel 20-30% dei casi alla diagnosi. Più rara è la sindrome diarroica (feci coleriformi), elettrolito-disperdente, solitamente accompagnata ad acidosi ipokaliemica, secondaria ad iperincrezione incontrollata di VIP (*Vasoactive Intestinal Peptide*) da parte della neoplasia; queste forme sono quasi sempre sostenute dagli istotipi di NB più differenziati e maturi.

Una *facies* particolare è quella contraddistinta da esoftalmo ed ecchimosi palpebrali bilaterali (*panda eyes*), tipica dei bambini più piccoli affetti da NB con metastasi alle ossa dell'orbita.

Nelle forme con localizzazione mediastinica o cervicale può essere coinvolto il ganglio stellato, con sindrome di Horner (ptosi, miosi, anidrosi, eterocromia). I NB mediastinici (figg. 3, 4 e 5) talora sono responsabili di disfagia e/o disturbi respiratori e in caso di invasione del canale midollare, di sintomatologie neurologiche da compressione: il NB è infatti la causa più frequente di compressione midollare nel neonato. Le forme cosiddette *dumbell* o *en sablier*, sono responsabili di paraplegie e di scoliosi residue postoperatorie rispettivamente nel 50% e nel 25% dei casi. Una compressione extradurale bassa può invece determinare una sindrome della *cauda* equina: questa si realizza quando sono interessate le radici di LII-SV e può essere completa, incompleta oppure monolaterale (emisindrome della *cauda*).

Tuttavia, indipendentemente dalla sede compressiva, la regressione dei deficit neurologici è influenzata dalla durata dei sintomi di compressione spinale: se questa è stata inferiore a 4 settimane, la regressione è quasi sempre completa, senza reliquati motori o sensoriali.





Digitized by Google

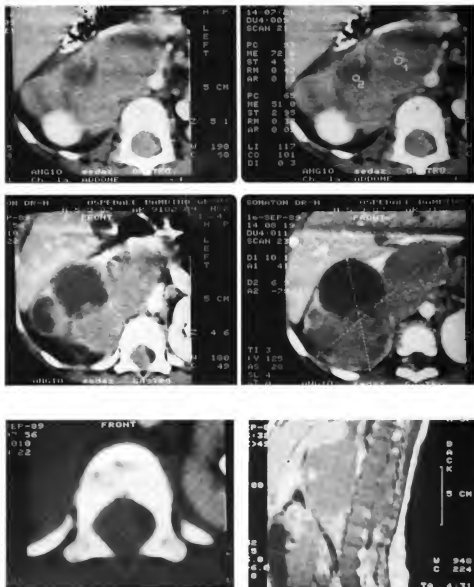



Fig. 2. Bambina di 3,7 anni di età: NB addominale. *In alto*: angio-TC. Tumefazione soprarenale destra che oltrepassa la linea mediana e presenta vaste aree di necrosi. La vena cava inferiore è dislocata anteriormente mentre l'arteria mesenterica e l'aorta sono modicamente dislocate a sinistra. *In basso, a sinistra*: TC; la neoformazione determina un assottigliamento del peduncolo destro del corpo vertebrale di Dxii; la massa si insinua nel canale spinale, dislocando e schiacciando verso sinistra, contro la parete del peduncolo, il sacco durale. *In basso, a destra*: in una sezione longitudinale di tomografia a RMN si mettono in evidenza i limiti dell'invasione neoplastica del canale vertebrale.



Digitized by Google

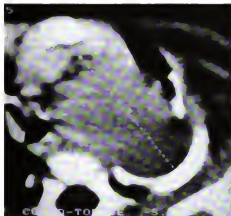



Fig. 3. Bambina di 1 mese di età: NB mediastinico. Angio-TC. Grossa neoformazione del diametro di circa 4 cm, parenchimatosa, localizzata nel mediastino posteriore, che si estende verso l'alto fino a livello di Cvi-Cvii. La trachea, uniformemente stenosata, appare dislocata anteriormente e verso sinistra.

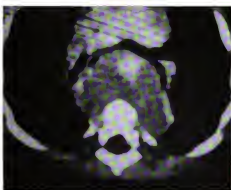



Fig. 4. Bambina di 2 anni di età: NB mediastinico. Angio-TC: ampia neoformazione, nel mediastino posteriore, che abbraccia i segmenti vertebrali assumendo un aspetto a bisaccia. L'esofago appare anteriorizzato e destroposto, mentre i bronchi principali sono stirati ed assottigliati.

Nel bambino più grande i segni neurologici sono meno sfumati. Nelle localizzazioni cervicali (fig. 6) possono essere presenti disturbi neurologici della deglutizione, per invasione del XII paio dei nervi cranici.

Alcuni NB mediastinici si manifestano con una sindrome da atassia cerebellare acuta, caratterizzata da opsomioclono e da un nistagmo caotico (*dancing eye syndrome*): per essa è stata prospettata un'etiologia autoimmunitaria, ove complessi antigene/anticorpo precipitano a livello cerebellare; anche se la presenza di questa sindrome non ha un valore prognostico particolarmente negativo, i bambini affetti continuano tuttavia a presentare disturbi e deficit neurologici anche dopo l'asportazione del NB. L'ipertensione endocranica raramente è un segnale di allarme e si può accompagnare a cefalea, crisi convulsive ed edema cerebrale.

Nelle localizzazioni pelviche oltre alla stipsi, ritenzione urinaria o infezioni delle vie urinarie recidivanti, può accompagnarsi un precoce edema pelvico o delle gonadi. Un emoperitoneo è talora segno di rottura spontanea endoaddominale.

Il NB può metastatizzare per via linfatica o ematogena, con ripetizioni ossee (midollo rosso e corticale, 80% dei casi di metastasi) ed epatiche: queste sono testimoniate rispettivamente da piastrinopenia, anemia e riduzione dei fattori di coagulazione (diatesi emorragica neoplastica). Le

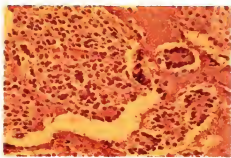



Fig. 5. Quadro istologico del caso della figura precedente: colorazione ematossilina-eosina, 40×. Nell'ambito di un tumore a piccole cellule rotonde, si evidenziano numerose pseudorosette cellulari di Homer Wright. NB differenziato, con aspetto *stroma rich* (tessuto stromale denso e ben sviluppato [tab. V]) e basso indice di carioressi.

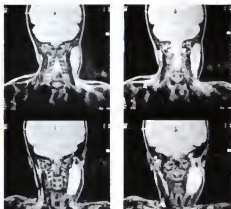



Fig. 6. Bambina di 4,6 anni di età: ganglioneuroma laterocervicale sinistro. RMN: tumefazione fusiforme che disloca anteriormente l'arteria carotide e posteriormente la vena giugulare con il nervo vago. La lesione si appoggia al piano prevertebrale ed alla base cranica.





Digitized by Google

metastasi ossee corticali, che hanno la prognosi peggiore, e la cui sede è più spesso metafisaria, sono causa di dolore interno vivissimo che può creare un rifiuto netto del bambino alla deambulazione.

Le metastasi al midollo osseo sono localizzate preferibilmente nella zona metafisaria delle ossa lunghe oltre che alla colonna vertebrale, alla pelvi, alle costole ed allo sterno. Infrequenti sono le metastasi spinali, cerebrali e cardiache, mentre quelle polmonari si riscontrano nel 4% dei comuni radiogrammi del torace.

Possono ancora comparire, senza peggiorare la prognosi, dei noduli sottocutanei duri, mobili, bluastri, che talora scompaiono spontaneamente (*blueberry muffin syndrome*): istologicamente si tratta di noduli neoplastici, più maturi del tumore primitivo e spesso riferibili a ganglioneuromi puri.

**Immunobiopatologia**

Tra tutti i tumori solidi, l'aspetto macroscopico nel NB è dei più vari e difformi, con aree emorragiche alternate a zone giallo-grigiastre, più o meno trabecolate e spesso sede di fini calcificazioni, che sono un carattere distintivo fondamentale nei confronti di altre neoplasie solide pediatriche (ad es., V. NEFROBLASTOMA*).

Istologicamente il NB è un tumore a piccole cellule rotonde intensamente basofile (*small blue cell tumor*), con grande nucleo e scarso citoplasma, di difficile differenziazione immediata nei confronti del rabdomiosarcoma, del sarcoma di Ewing, del neuroepitelioma e del linfoma non-Hodgkin. Tuttavia, il NB è l'unico a presentare «pseudorosette cellulari» (dette di Homer-Wright): queste formazioni sono costituite da piccoli ed uniformi elementi cellulari disposti circolarmente attorno ad un reticolo di fibrille eosinofile. Peculiarità morfologica ultrastrutturale è il riscontro di granuli di neurosecreto (elettrondensi), sede di conversione dopamina-noradrenalina; inoltre, la microscopia elettronica identifica processi dendritici, neurotubuli e neurofilamenti.

Eccezionali sono le forme di NB parasimpatico, con produzione di acetilcolina.

Un'escrezione urinaria anomala di catecolamine è presente nel 75% dei casi e può comprendere ognuno dei bioprodotti intermedi: ac. omovanillico (HVA), ac. vanillilmandelico (VMA), ac. vanillilglicolico, metanefrina, dopamina. I bambini affetti dalle forme più mature di NB tendono a produrre soprattutto VMA, mentre nelle forme tumorali più indifferenziate prevale la secrezione di HVA e di dopamina. Questi ultimi NB, infatti, mancano dell'enzima beta-idrossilasi, indispensabile alla conversione dopamina-noradrenalina.

Accanto all'iperincrezione di catecolamine e di VIP (sindrome di Werner-Morrison), sono stati segnalati elevati livelli sierici di NSE (*Neuron Specific Enolase*), ferritina (soprattutto nella forma glicosilata), cistationina, omoserina ed ultimamente di NPY (*Neuro Peptide Y*; V. Y-YY PEPTIDI*).

Nel 25% dei casi si può inoltre osservare un aumento dei livelli di CEA (dato, quest'ultimo, di incerto significato).

Come già detto, il NB è dotato di differenti potenzialità evolutive, tali da identificare, in alcuni casi, una storia biologica di regressione-scomparsa che può suggerire un meccanismo immunologico derivante da un complesso rapporto tumore/ospite: la necrosi e la maturazione sono i due principali meccanismi di regressione spontanea, fenomeno che si osserva più spesso nei bambini al di sotto dell'anno di età e globalmente nell'1% dei pazienti con residui tumorali macroscopici postoperatori. Sono inoltre descritte evoluzioni maturative post-chemioterapia.

L'attività immunogena del NB è stata in passato ben evidenziata dalla presenza di anticorpi (IgG) bloccanti la risposta citotossica linfocito-mediata dell'ospite, fenomeno che cessa con l'exeresi tumorale.

Quest'attività si associa a una diminuita capacità funzionale dei linfociti *killer* e ad una ridotta blastogenesi linfocitaria, tipiche delle forme tumorali più aggressive e ad espressione disseminata.

**Citogenetica e biologia molecolare**

Anormalità cromosomiche nei casi di NB sono riportate nell'80% dei casi e le più frequenti consistono nella delezione del braccio corto del cromosoma 1 e nelle anomalie del cromosoma 17. Attualmente sono in corso diverse tecniche di citometria di flusso (FCM) per lo studio del contenuto di DNA e per la caratterizzazione di eventuali aberrazioni cellulari. La FCM è infatti in grado di individuare aberrazioni anche in piccoli gruppi cellulari e quindi di predire l'aggressività del tumore, che può essere così sintetizzata: *euploidia* = prognosi cattiva; *aneuploidia* = prognosi buona.

È quindi importante la valutazione del cosiddetto *DNA-index*, cioè il rapporto tra contenuto di DNA delle cellule tumorali e delle cellule normali.

Ulteriori ricerche, anch'esse in attesa di una correlazione prognostica, riguardano gli *oncogèni*. L'oncogène è un gene cellulare normale, la cui attivazione o inappropriata espressione è associata a una trasformazione maligna. Meccanismo base per l'attivazione di un oncogène è l'«amplificazione» e cioè l'aumento del numero di copie del gene per cellula. Oggi si ritiene che l'*N-myc*, di normale riscontro in copia singola sul braccio corto del cromosoma 2, sia un oncogène utile quale indicatore prognostico, definendo la progressione di alcuni NB. Sia l'*N-myc* che l'*N-ras* sono amplificati nelle cellule tumorali di NB in fase già avanzata (III, IV stadio) o che tenderanno ad un'evoluzione sfavorevole e solo raramente nelle forme localizzate o a prognosi migliore (I stadio, stadio IVS). La prognosi è peggiore nei casi in cui l'amplificazione dell'*N-myc* è superiore alle 10 copie.

***Screening* e diagnosi**

Oltre 15 anni fa AA. giapponesi hanno proposto il primo schema di *screening* di massa per il NB che veniva effettuato con *VMA-spot test*, basandosi sulla reazione degli acidi fenolici urinari con diazossido di nitroanilina. Più recentemente lo *screening* di massa si avvale di due ulteriori metodiche: l'HPLC (cromatografia liquida ad alta risoluzione) e l'EIA (*Enzyme Immunoassay*) che utilizza due differenti anticorpi monoclonali. Non sono tuttavia mutate le indicazioni all'attuazione di questi programmi che, nell'esperienza giapponese, senza modificare la strategia terapeutica, hanno dimostrato un miglioramento della sopravvivenza dal 17 fino al 75% (nell'esecuzione, 25 nuovi casi di età inferiore a 6 mesi sono stati riscontrati sull'intero gruppo di studio costituito da oltre 430.000 bambini). Alcuni studi recenti indicano che uno *screening* all'età di 6 mesi potrebbe essere troppo precoce per identificare le forme di NB euploidi o con amplificazione dell'*N-myc* e pertanto consiglierebbero di ripeterlo all'età di 12-18 mesi.

Se questi presupposti di epidemiologia e prevenzione fossero applicabili ad altri Paesi e popoli, si calcola che oltre 200 vite potrebbero essere salvate ogni anno.

La diagnosi della malattia si avvale di esami bioumorali: *spot-test* o dosaggio urine/24 h previa dieta adeguata, delle catecolamine urinarie e degli altri *markers* già menzionati. Indispensabile è la biopsia più aspirato midollare bilaterale delle creste iliache posteriori, che sono positivi nel 20-30% dei casi.



Digitized by Google

La diagnostica strumentale per immagini comprende la ecografia, la scintigrafia, la TC, la RMN.

L'ecografia, primo gradino diagnostico, rivela un tumore solido (iperecogenicità) ed identifica le calcificazioni (80% dei casi circa): eterogenee, esse possono assumere l'aspetto di uo orletto calcifico, di lesioni puntiformi o globulari.

La TC conserva una notevole accuratezza nella stadiazione del NB (82%), che viene migliorata se associata ad agobiopsia mirata (97%). Le immagini tipiche dimostrano una dislocazione inferiore o laterale del rene (rispettivamente nelle sedi surrenaliche e paraspinali) senza evidenziare quelle distorsioni intrinseche del sistema calico-pielico tipiche del nefroblastoma (v.*). La TC consente inoltre uno studio ottimale del retroperitoneo, delle regioni pelviche e dell'asse celiaco-mesenterico: il NB può dislocare, circondare o «congelare» le strutture vascolari ed estendersi oltre la linea mediana con dei margini irregolari e senza mostrare una capsula ben definita.

La RMN identifica più nettamente i differenti rapporti vascolari (soprattutto la vena cava inferiore, l'arteria mesenterica superiore e il tripode celiaco), le invasioni del midollo osseo e l'estensione delle propaggini intraspinali (più frequenti in sede mediastinica). In questi casi l'iconografia della lesione dimostra che la sua estensione può essere superiore o ioferiore rispetto al forame vertebrale di entrata; talora le dimensioni ridotte della componente extraspinale del tumore sono inversamente proporzionali alla quota intraspinale, assai estesa. Io genere l'espansione intratecale si mantiene extradurale, rappresentando la dura madre una efficace barriera contro l'infiltrazione del midollo spinale.

La scintigrafia è utile nello studio delle localizzazioni secondarie, ove il $^{123}$I-MIBG (meta-iodio-benzil-guanidina) è particolarmente indicato per lo studio delle metastasi ossee.

Una diagnosi differenziale deve essere effettuata nei confronti dell'emorragia surrenalica neonatale, di altre neoplasie surrenaliche (teratomi, adenomi corticali, carcinomi, feocromocitomi) e di alcune masse retroperitoneali: il nefroblastoma, il PNET, lo pseudotumore infiammatorio, linfoadenopatie da malattie sistemiche, epatoblastomi destri, tumori spleoici (amartomi, cisti).

**Stadiazione, prognosi e terapia**

Assai diffusa è la stadiazione del Children's Cancer Study Group, classificazione di Evans, che comprende due primi stadi per le forme localizzate, un III e IV stadio per i NB avanzati ed un ulteriore particolare stadio definito IVS (tab. IV).

I dati attuali sulla sopravvivenza a 2 anni secondo tale stadiazione (Evans, 1980) sono i seguenti: I stadio 100%; II stadio 81%; III stadio 38%; IV stadio 12%; IVS 81%. Una sopravvivenza globale a 3 anni è valutata intorno al 44%. È evidente, quindi, che nella valutazione prognostica complessiva debbono essere introdotti criteri inerenti l'età, le manifestazioni cliniche, l'attività bioumorale del tumore, l'istologia, lo *staging*, le terapie attuate. Così, i fattori associati a prognosi favorevole comprendono: 1) età superiore ad un mese e inferiore ad 1 anno; 2) buona nutrizione del bambino; 3) opsomioclono; 4) localizzazioni cervicali, pelviche, mediastiniche; 5) normali ferritina, NSE, *N-myc*; 6) secrezione di VIP; 7) stadi I, II, IVS; 8) chirurgia radicale; 9) istologia matura; 10) DNA aneuploidia.

I fattori associati a prognosi sfavorevole sono invece i seguenti: 1) età inferiore al mese e superiore ad 1 anno; 2) malnutrizione; 3) sede retroperitoneale; 4) elevati livelli di HVA, dopamina; 5) elevati livelli di NSE, ferritina, NPY; 6) *N-myc* > alle 10 copie; 7) stadi III, IV; 8) asportazione incompleta; 9) istologia indifferenziata e DNA diploide.

**TAB. IV. STADIAZIONE SECONDO EVANS** (Children's Cancer Study Group)

| Stadio | Caratteristiche |
|---|---|
| I | tumore confinato all'organo o alla struttura di origine |
| II | tumore esteso per continuità oltre il sito di origine ma *non* oltrepassante la linea mediana |
| III | tumore oltrepassante la linea mediana |
| IV | malattia disseminata (coinvolgimento scheletrico) |
| IVS | pazienti che altrimenti sarebbero classificati come stadio I o II ma che presentano metastasi al fegato, alla cute, al midollo osseo, ma *non* alle ossa |

**TAB. V. CLASSIFICAZIONE ANATOMOPATOLOGICA E PROGNOSTICA DEL NB SECONDO SHIMADA**

**NB *Stroma Poor* (NBSP)**

Crescita diffusa di neuroblasti, presenti in varie fasi di maturazione, separati da rari e sottili setti stromali fibrovascolari. Il numero totale di mitosi e l'indice di carioressi (MKI) hanno notevole influenza sulla sopravvivenza. Ne esistono due sottotipi:

NBSP indifferenziato (alto MKI, età spesso > 1,5 anni);

NBSP indifferenziato (basso MKI, età spesso < 1 anno).

**NB *Stroma Rich* (NBSR)**

Aspetto più differenziato, con elementi gangliari maturi misti a neuroblasti in fase di differenziazione, compresi in un tessuto stromale denso e ben sviluppato, ove si apprezzano cellule di Schwann e componenti perineurali ed endoneurali. Ne esistono tre sottotipi:

NBSR ben differenziato;

NBSR misto;

NBSR nodulare (ove i noduli sono costituiti da neuroblasti immaturi).

Alcuni criteri anatomopatologici utili ai fini prognostici sono stati proposti da Shimada, su uno studio comprendente oltre 200 NB non pretrattati. La classificazione di questo A., basata sulla maturazione dei neuroblasti e sullo sviluppo delle componenti stromali, comprende due varianti istotipiche e relativi sottotipi (tab. V).

Secondo questa classificazione, un indice prognostico favorevole è rappresentato dalle varianti NBSP (NB *stroma poor*) differenziato e NBSR (NB *stroma rich*) ben differenziato e misto. Il 70% di questo gruppo comprende sedi extraddominali e appartiene, alla diagnosi, a stadi precoci: I, II, IVS. La sopravvivenza a medio termine è dell'87%.

Un indice prognostico sfavorevole è invece proprio delle varianti NBSP indifferenziato e NBSR nodulare. L'80% di questo gruppo appartiene al III e IV stadio. La sopravvivenza a medio termine è del 7%.

Altre stadiazioni sono state descritte dal St. Jude Children's Research Hospital e dalla UICC (TNM). Più recentemente, un'esperienza oncologica internazionale ha proposto una stadiazione che include criteri operatori, istologici e linfonodali. Tale classificazione, definita da Brodeur, comprende gli stadi riassuoti nella tab. VI.

Dal punto di vista chirurgico, le sedi laterali (surrene, collo, mediastino), rispetto ai tumori centrali sono più suscettibili di un'exeresi completa, più accurata e con meno complicanze intraoperatorie. I tumori addominali bilaterali richiedono una dissezione più attenta a risparmiare i grossi





Digitized by Google

**TAB. VI. STADIAZIONE DEL NB SECONDO BRODEUR**

I: Tumore confinato all'area di origine; asportazione *in toto*; linfonodi negativi.
*Chirurgia (exeresi completa).*

IIA: Tumore unilaterale; exeresi incompleta con residui macroscopici; linfonodi negativi.
*Chirurgia, eventuale radioterapia a basse dosi*.*

IIB: Tumore unilaterale; exeresi completa o incompleta con residui macroscopici; linfonodi regionali positivi.
*Chirurgia, radioterapia a basse dosi + chemioterapia multimodale (se > N-myc,* > ferritina, istologia sfavorevole, NDA diploide).

III: Tumore che oltrepassa la linea mediana con o senza linfonodi regionali positivi; oppure tumore unilaterale con coinvolgimento dei linfonodi regionali controlaterali; oppure tumore che oltrepassa la linea mediana con coinvolgimento linfonodale bilaterale.
*Casi a prognosi favorevole (e con linfonodi negativi): chirurgia isolata.*
*Casi a prognosi sfavorevole: chemioterapia multimodale aggressiva poi chirurgica, radioterapia**, eventuale trapianto di midollo. Nutrizione parenterale totale (NPT).*

IV: Malattia disseminata.
*Chemioterapia. Eventuale chirurgia. Eventuale radioterapia***. NPT.*

IVS****: Tumore localizzato (come per gli stadi I e II) ma disseminato limitatamente a fegato, cute e/o midollo osseo.
*Non trattamento. Chirurgia del tumore primario. Chemioterapia e radioterapia per il controllo delle metastasi se sono presenti dati prognostici sfavorevoli o in caso di epatomegalia compromettente la funzionalità respiratoria. Nutrizione parenterale totale (NPT).*

* radioterapia con dosi non superiori ai 1000 rad;
** radioterapia con TBI (*Total Body Irradiation*);
*** radioterapia locale.
**** Il NB IVS ha generalmente una prognosi favorevole mentre peggiora nei bambini di età inferiore alle 6 settimane; se però i pazienti presentano noduli sottocutanei, la loro prognosi migliora e diviene indipendente dall'età.

tronchi collaterali di un'aorta che spesso è depiazzata e arcuata dalla neoplasia. Durante un primo intervento non è mai indicata l'exeresi di organi viciniori come il colon, il pancreas e la milza, che potranno essere esplorati con un *second look* (e quindi dopo altre terapie). L'intervento prevede sempre un campionamento delle diverse stazioni linfonodali tributarie. Nelle forme localizzate la chirurgia è immediata (non preceduta da trattamento chemioterapico) e, in genere, l'ablazione è radicale: pertanto nel I e II stadio l'atto chirurgico ha un ruolo primario.

Nelle forme avanzate (III, IV stadio) la terapia chirurgica deve intervenire dopo avere valutato la possibile necessità di ricorrere a tecniche di anestesia ipotensiva, di emodiluizione, di ipotermia e di *bypass* cardiopolmonare. Sono queste infatti le neoplasie più «cattive», che danno un maggior numero di complicanze intra- e postoperatorie, tra cui le più frequenti sono: emorragie, lesioni delle vie urinarie (lacerazioni ureterali), ascite massiva, ileo, occlusioni, polmoniti e atelettasie.

Un secondo o un terzo intervento sono previsti nei NB responsivi alle terapie mediche o radianti, poiché possono consentire il completamento di un'exeresi e quindi un aumento della percentuale di *survival free* (miglioramento della prognosi). I protocolli terapeutici comprendono attualmente chemio- e non-chemioterapie associate (ad es., uso combinato di ciclofosfamide, etoposide, thiotepa, carboplatino, desferossamina).

Infine, come si può osservare dalla classificazione di Brodeur, nelle forme di NB al III e IV stadio è proposto il trapianto di midollo, utilizzato quale supporto (ripristino di normale ematopoiesi) alle terapie combinate con dosi sovraletali previste in queste fasi avanzate della neoplasia. Il trapianto può essere autologo (midollo dello stesso paziente), singenico (da un gemello identico) oppure allogenico (da un fratello) se istocompatibile: quest'ultimo è il caso più frequente. Ovviamente il trapianto autologo, se il midollo è invaso, è possibile solo in virtù di tecniche di purificazione midollare (tecniche immunomagnetiche, che utilizzino anticorpi monoclonali marcati con microsfere contenenti magnetite).

**Bibliografia**


Boglino C., Inserra A., Ciprandi G. *et al.*, *Gaslini*, 1990, **22**, 128.
Bolande R. P., *Hum. Pathol.*, 1974, **5**, 409.
Brodeur G. M., Seeger R. C., Barrett A. *et al.*, *J. Clin. Oncol.*, 1988, **6**, 1874.
De Bernardi B., Rogers D., Carli M. *et al.*, *Cancer*, 1987, **60**, 1066.
Dehner L. P., *Neuroblastoma*, in *Pediatric Surgical Pathology*, Dehner L. P. ed., 1987, 2 ed., Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 562-574.
Evans A. E., *Natural History of Neuroblastoma*, in Evans A. E. ed., *Advances in Neuroblastoma Research*, 1980, Raven Press, New York, p. 3.
Grosfeld J. L., *Neuroblastoma in Infancy and Childhood*, in Hays D. M. ed., *Pediatric Surgical Oncology*, 1986, Grune & Stratton, Philadelphia, pp. 63-85.
Grosfeld J. L., *Neuroblastoma*, in *Pediatric Surgery*, Ravitch Book Medical Publishers, Chicago, pp. 283-293.
Hayes F. A., Smith E. I., *Neuroblastoma*, in *Principles and Practice of Pediatric Oncology*, Pizzo P. A., Poplack D. G. eds., 1989, J. B. Lippincott Company, Philadelphia, pp. 607-622.
Kirks D. R., *Neuroblastoma*, in *Practical Pediatric Imaging. Diagnostic Radiology of Infants and Children*, 1984, Little, Brown and Company, Boston/Toronto, pp. 754-762.
MacMillan R. W., Blanc W. B., Santulli T. V., *J. Pediatr. Surg.*, 1976, **11**, 461.
Nesbit M. E., *Cancer*, 1990, **65**, 696.
Sawada T., Hirayama M., Makata T., *Lancet*, 1984, **2**, 271.
Seeger R. C., Reynolds C. P., Moss T. J. *et al.*, *Autologous Bone Marrow Transplantation for Poor Prognosis Neuroblastoma*, in Dicke K. A., Spitzer G., Jagannath S. eds., *Autologous Bone Marrow Transplantation: Proceedings of Third International Symposium*, 1987, M. D. Anderson, Houston, pp. 375-382.
Shimada H., Chatten J., Newton W. A. *et al.*, *JNCI*, 1984, **73**, 405.


CAMILLO BOGLINO, GUIDO CIPRANDI, ALESSANDRO INSERRA, ANDREA SILVANO E PAOLO SEAVENTI

## NEUROFIBROMATOSI [v. vol. X, col. 767]

Le neurofibromatosi (NF) sono malattie ereditarie che colpiscono tessuti di origine sia ectodermica che mesodermica, cosicché tutti gli apparati dell'organismo possono, virtualmente, esserne coinvolti, direttamente o attraverso influenze nervose e vascolari.

Attualmente vengono suddivise in due forme principali, clinicamente e geneticamente distinte, denominate *neurofibromatosi 1* (NF-1; varietà periferica di Von Recklinghausen) e *neurofibromatosi 2* (NF-2; varietà centrale, o neurinoma bilaterale dell'acustico). Tale classificazione numerica è stata adottata dalla moderna nosografia per identificare meglio due entità morbose che nella loro storia naturale possono presentare entrambe manifestazioni sia centrali che periferiche, con una tale variabilità di espressione, anche nell'ambito della medesima famiglia, da rendere difficile la gestione terapeutica e, a volte, impossibile predire il decorso della malattia nel singolo paziente. È comunque molto importante distinguere la NF-1 dalla NF-2 perché le basi genetiche e il decorso clinico sono differenti. I criteri diagnostici, proposti nel 1987 dal National Institutes of Health Consensus Development Conference, sono elencati





Digitized by Google

**TAB. 1. CRITERI PER LA DIAGNOSI DELLE NEUROFIBROMATOSI**

**Neurofibromatosi 1**

La neurofibromatosi 1 può essere diagnosticata in presenza di due o più dei seguenti segni:

- 6 o più macchie di color caffè-latte il cui diametro maggiore è superiore ai 5 mm in età prepuberale e superiore ai 15 mm in età postpuberale;
- 2 o più neurofibromi di qualsiasi tipo, oppure un neurofibroma plessiforme;
- efelidi in regione ascellare o inguinale;
- glioma ottico;
- 2 o più noduli di Lisch (amartomi dell'iride);
- una lesione ossea distinta quale la displasia dello sfenoide o l'assottigliamento della parte compatta delle ossa lunghe, con o senza pseudoartrosi;
- un genitore, fratello o figlio con neurofibromatosi 1 in accordo ai criteri esposti.

**Neurofibromatosi 2**

La neurofibromatosi 2 può essere diagnosticata in presenza di uno dei seguenti segni:

- tumore bilaterale dell'VIII nervo cranico individuato con appropriate tecniche d'immagine (TC o RMN);
- un genitore, fratello o figlio con neurofibromatosi 2 o con tumore unilaterale dell'VIII nervo cranico oppure con altri due segni dei seguenti: neurofibroma, meningioma, glioma, schwannoma, giovanile opacità lenticolare posteriore sottocapsulare.

nella tab. 1 ed essi restano validi nella sostanza, anche alla luce di alcuni commenti più recenti (National Institutes of Health Conference, 1990).

L'impiego d'indagini quali la RMN o la TC, che offrono una migliore e più precoce visualizzazione delle lesioni, permette una maggiore tempestività d'intervento, che è rivolto, comunque, solo al miglioramento della sintomatologia, non essendoci ancora cure specifiche.

Importanti progressi, invece, sono stati di recente compiuti nel campo della genetica e patogenesi di queste malattie, con l'utilizzo di moderne tecniche citogenetiche, che hanno consentito di individuare, su cromosomi differenti, i relativi geni.

La NF-1 è una delle più frequenti malattie mendeliane nell'uomo, con un'incidenza di 1 caso ogni 4000 individui; viene trasmessa come carattere autosomico dominante, presente con uguale frequenza in tutte le razze, con circa la metà dei casi probabilmente dovuti a nuove mutazioni. La penetranza del difetto è tra le più alte registrate, ma l'espressione fenotipica è molto variabile. La NF-2 mostra le stesse caratteristiche ereditarie tranne una più bassa incidenza, stimata nell'ordine di 1 caso ogni 50.000 individui.

Il gene della NF-1, indicato come *nf1*, è stato individuato (Barker *et al.*, 1987) nella parte prossimale del braccio lungo del cromosoma 17 e successivamente meglio identificato (Fountain *et al.*, 1989) come un gene formato da poche centinaia di kilobasi, posto nella banda cromosomica 17p11.2. Da notare che la delezione parziale, sullo stesso cromosoma, del braccio corto è stata osservata in un'alta percentuale di astrocitomi con vario grado di malignità. Invece la perdita di materiale genico nella parte centrale del braccio lungo del cromosoma 22 (Seizinger *et al.*, 1986) è risultata essere il comune denominatore nei casi di meningioma e di neurinoma acustico mono- o bilaterale, tipiche neoplasie della NF-2.

In analogia a quanto identificato nei tumori embrionali, si presume che, con la perdita di materiale genico sul cromosoma 22, verrebbe eliminato un gene omologo selvaggio (*gene tumor suppressor*) e consentito lo smascheramento ed espressione dell'allele mutato recessivo (v. anche ANTIONCOGÈNI*). Perché avvenga la trasformazione neoplastica devono verificarsi, quindi, due distinti fenomeni: una mutazione genica di natura recessiva, seguita dalla perdita dell'allele omologo normale, conseguente a una delezione cromosomica oppure a una ricombinazione mitotica. La mutazione, essendo recessiva, può essere trasmessa nella linea germinale, determinando un *pattern* genetico familiare per la malattia. In tali gruppi familiari l'insorgenza di tumori bilaterali indipendenti è relativamente frequente, essendo il risultato di un solo evento — perdita di un gene normale o *tumor suppressor* — che può verificarsi in qualsiasi cellula. Nei casi non familiari o sporadici i tumori unilaterali o solitari sono la conseguenza della non comune associazione di due eventi rari nella stessa cellula. Una recente indagine, inoltre, ha individuato il gene *nf2* tra la banda 11.1 e 13.1 del cromosoma 22, sebbene non si possa ancora concludere che questo sia l'unico gene implicato nella malattia (National Institutes of Health Conference, 1990).

Tuttavia è ancora oscuro come tali alterazioni cromosomiche promuovano la trasformazione neoplastica. Sebbene i geni responsabili siano localizzati su cromosomi differenti, la patogenesi di entrambe le malattie potrebbe coinvolgere proteine funzionalmente correlate che influenzano la proliferazione delle cellule di Schwann. Osservazioni cliniche sul rapporto tra accrescimento delle masse tumorali e modificazioni endocrine fisiologiche suggerivano che la patogenesi di queste malattie fosse collegata alla produzione abnorme di un ormone o di un fattore di crescita. Per un periodo si è ritenuto che tale fattore potesse essere il *Nerve Growth Factor* (NGF) (v. NERVOSO TESSUTO*) perché era frequente il riscontro nel siero di pazienti con NF-2 di una aumentata attività antigenica, non funzionale, relativa all'NGF e di una aumentata attività simil NGF nella NF-1. Successivamente è stato escluso qualsiasi rapporto causale perché il gene dell'NGF, anch'esso individuato sul cromosoma 17, non segrega con il gene della NF-1 nelle famiglie affette.

Infine, in diversi casi di NF-2 è stata evidenziata un'elevata attività di una sostanza *simil-fattore di crescita gliale*, da alcuni, pertanto, sospettato essere il responsabile dell'abnorme proliferazione delle cellule di Schwann nei neurinomi acustici ed in alcuni neurofibromi.

Concludendo, molte neoplasie umane possono presentarsi o come eventi sporadici all'interno della popolazione generale oppure come forme ereditarie familiari. Le sindromi tumorali ereditarie offrono l'unico modello valido per isolare i geni le cui mutazioni portano alla trasformazione neoplastica. Pertanto il clonaggio e la caratterizzazione dei geni della NF-1 e della NF-2 potranno avere un ruolo fondamentale per la diagnosi e il trattamento non solo dei tumori ereditari relativamente rari, bensì anche della loro molto più comune controparte sporadica, come la maggior parte dei tumori cerebrali.

**Bibliografia**

Barker D., Wright E. *et al.*, *Science*, 1987, **236**, 1100-1102.
Fountain J. W., Wallace M. R. *et al.*, *Science*, 1989, **244**, 1085-1087.
National Institutes of Health Conference, *Ann. Intern. Med.*, 1990, **113**, 39-52.
National Institutes of Health Consensus Development Conference, *Arch. Neurol.*, 1988, **45**, 575-578.
Seizinger B. R. *et al.*, *Nature*, 1986, **322**, 644-647.

GUIDO PALLADINI E LUIGI CALANDRIELLO





Digitized by Google

## NEUROLETTICA MALIGNA SINDROME

F. *syndrome neurodysleptique de Delay et Deniker*. - I. *neuroleptic malignant syndrome.*

SOMMARIO



### Introduzione

La *sindrome maligna da neurolettici* [NMS, dalle iniziali dei termini inglesi] è una complicanza ben nota della terapia con farmaci antipsicotici, anche se probabilmente la meno frequente. Il quadro è caratterizzato da ipertermia, marcata rigidità muscolare, alterazioni dello stato di coscienza e instabilità del sistema nervoso autonomo.

Il termine NMS fu coniato da Delay e Deniker nel 1968, i quali rilevarono come una sindrome analoga fosse stata registrata dopo l'encefalite letargica. Di particolare interesse è il dato che tutte le complicanze della terapia con neurolettici assomiglino molto a quelle legate alla encefalite letargica.

A tutt'oggi non è nota l'incidenza esatta della NMS dato che il quadro viene spesso misconosciuto. In una revisione di Smego della letteratura inglese, fino alla fine del 1981 ne erano stati segnalati solo 37 casi, mentre in un editoriale del *New England Journal of Medicine* del 1985 l'incidenza è stimata nell'ordine dello 0,5-1% di tutti i pazienti esposti a terapia con neurolettici. L'indice di mortalità è del 20-30%.

L'esordio della sindrome è acuto, mentre il paziente sta assumendo dosaggi terapeutici, non necessariamente tossici, di neurolettici; non sembra esistere alcuna correlazione tra la durata della terapia e la comparsa dei disturbi potendosi sviluppare a breve distanza dall'assunzione della prima dose, o in qualsiasi altro momento.

Sono stati implicati tutti i farmaci antipsicotici (fenotiazine, butirrofenoni, tioxanteni, benzamidi e neurolettici *depot*); in genere, la potenzialità del farmaco di indurre la NMS appare direttamente proporzionale alla sua potenza antidopaminergica (blocco dei recettori $D_2$).

Sono stati segnalati inoltre numerosi casi di ipertermia insorta durante la sospensione di farmaci antiparkinsoniani in cui il quadro clinico è del tutto analogo a quello della NMS; questa analogia ha indotto alcuni AA., a partire da Toru, il primo che l'ha descritta, nel 1981, ad assimilare questa sindrome alla NMS indicandola come *neuroleptic-like*, anche se differente appare il momento scatenante. Del tutto particolare è il caso di una NMS insorta in un paziente in trattamento con farmaci *dopamine depleting* (reserpina, alfa-metiltirosina e tetrabenazina) per una corea di Hungtington.

### Patogenesi

È ben documentato come i neurolettici, sia in esperimenti animali che nella clinica corrente, possano alterare i meccanismi di trasmissione dopaminergica deputati al controllo della termoregolazione a livello ipotalamico.

Tali farmaci bloccano i recettori per la dopamina anche a livello ipotalamico inducendo un blocco funzionale della termoregolazione. Al freddo, l'animale disperde calore attraverso una dilatazione periferica paradossa e non è in grado di innescare i meccanismi di termoproduzione aumentando il metabolismo e la contrazione muscolare (brivido da freddo); a temperatura ambientale elevata, è incapace di dissipare calore attraverso i meccanismi termodispersori per cui non riesce a disperdere il calore prodotto da una intensa attività muscolare o da un aumentato metabolismo basale. L'importanza del metabolismo basale nella termogenesi è dimostrata nell'uomo dall'insorgenza di un coma ipotermico in soggetti ipotiroidei in seguito alla somministrazione di neurolettici.

Si deve aggiungere che è stato attribuito al sistema nigrostriatale un ruolo sinergico all'ipotalamo nella termoregolazione. Peraltro, il ruolo della *substantia nigra* a riguardo potrebbe essere esclusivamente legato alla maggiore o minore efficienza del sistema nigrostriatale che, influenzando la contrazione muscolare, è indirettamente responsabile della maggiore o minore produzione di calore.

È stato ipotizzato che l'alterazione farmacologicamente indotta del sistema dopaminergico a livello nigro-striatale e a livello ipotalamico sia responsabile della NMS, anche se non si può escludere che la sindrome sia scatenata per il concorso di altri cofattori quali la temperatura ambientale, la quota di calore derivante dalla iperattività motoria (eventuale stato di agitazione psicomotoria) e un aumentato metabolismo basale.

### Quadro clinico

L'ipertermia, che può raggiungere e superare i 40-41 °C, è continua e non risponde ai farmaci antipiretici; la rigidità muscolare è marcata ed è caratterizzata da un ipertono generalizzato; le alterazioni dello stato di coscienza, talora precedute da un'agitazione psicomotoria, variano da uno stato di inattenzione e mutismo sino allo *stupor* e al coma. L'interessamento del sistema nervoso autonomo è rappresentato da pallore, tachicardia, aritmia cardiaca, modificazioni della pressione arteriosa e alterazioni della sudorazione, che variano da una assente a una profusa sudorazione. A volte il quadro clinico è aperto da crisi convulsive generalizzate, crisi oculocefalogire o opistotono.

Nessun dato ematochimico mostra alterazioni specifiche. Frequenti elevazioni della VES, leucocitosi (15.000-30.000) con o senza spostamenti della formula leucocitaria e aumenti di transaminasi, latticodeidrogenasi e della fosfatasi alcalina, aumenti questi che riflettono una lesione acuta epatica indotta dalla ipertermia. Sono molto elevati anche i valori degli enzimi CPK e aldolasi nel siero, riflettendo l'entità della mionecrosi che si sviluppa durante l'intensa e sostenuta contrazione muscolare. Possono essere registrati, inoltre, modificazioni della concentrazione degli elettroliti (Na, K, Cl) e i reperti ematochimici di una coagulopatia intravasale disseminata, una delle più temibili complicanze della NMS (aumento dei prodotti di degradazione del fibrinogeno, piastrinopenia, etc.).

L'EEG è normale o può suggerire un'encefalopatia aspecifica, così come è normale l'esame del liquor; la TC del cranio risulta in genere nei limiti della norma o può evidenziare un modesto edema cerebrale. L'esame autoptico, a parte un edema cerebrale di entità variabile, non ha mai rilevato alterazioni specifiche.

### Terapia

La NMS è un'emergenza medica e impone come primo provvedimento l'immediata sospensione dei farmaci responsabili della sindrome stessa, nonché degli anticolinergici eventualmente associati per la loro azione di blocco delle ghiandole sudoripare.

Considerando la patogenesi della NMS (blocco farmacologicamente indotto dei recettori per la dopamina a livello ipotalamico e nigrostriatale), la terapia prevede le misure seguenti:

a) raffreddamento passivo della massa corporea con l'impiego di mezzi fisici (mantenimento del paziente in ambiente fresco, eventualmente con aria condizionata, spu-



Digitized by Google

gnature di alcol, borse di ghiaccio, materassini perfrigeranti, etc.);

b) somministrazione di dantrolene sodico, per la sua azione diretta di blocco del rilascio dello ione calcio dal reticolo sarcoplasmatico, con risultante riduzione della contrazione muscolare e ridotta produzione di calore. Il dosaggio suggerito è sino a 400 mg al giorno *per os*, eventualmente per sondino nasogastrico (in Italia non è in commercio la preparazione del farmaco per via parenterale) da protrarsi sino alla risoluzione della sindrome ipertermica (v. DANTROLENE*);

c) impiego di farmaci dopamino-agonisti, quale levodopa-carbidopa *per os* (sino a 750 mg al giorno), bromocriptina (sino a 10 mg al giorno) *per os* e lisuride *per os* (sino a 2 mg al giorno) (in Italia non è in commercio la preparazione del farmaco per via parenterale).

Utile, infine, l'eparina per via sottocutanea a basse dosi, quale trattamento profilattico delle alterazioni dei meccanismi della coagulazione e il controllo dello stato di idratazione del paziente.

È stato più volte sottolineato che nei soggetti in cui la NMS si è risolta favorevolmente, la reintroduzione di una terapia con neurolettici, a bassi dosaggi e di bassa incisività, può non reinnescare una NMS, a dimostrazione di come tali farmaci siano una necessaria, ma non sufficiente, causa della sindrome stessa.

**Bibliografia**

Cox B., *Dopamine*, in Lomax P., Schonbaum E. eds., *Body Temperature Regulation, Drug Effect and Therapeutic Implications*, 1979, Marcel Dekker, New York, pp. 231-55.
Delay J., Deniker P., *Drug-induced Extrapyramidal Syndrome*, in Vinken P. J., Bruyn G. W. eds., *Handbook of Clinical Neurology*, 1968, vol. 6, North-Holland, Amsterdam, pp. 248-66.
Figà-Talamanca L., Gualandi C., *Ital. J. Neurol. Sci.*, 1989, **10**, 49-59.
Guzè B. H., Baxter L. R. jr., *N. Engl. J. Med.*, 1985, **313**, 163-166.
Smego R. A., Durack D. T., *Arch. Int. Med.*, 1982, **142**, 1183-1185.

LADISLAO FIGÀ TALAMANCA

## NEUROLETTICI FARMACI [v. vol. X, col. 779]

SOMMARIO



### Chimica

I farmaci neurolettici [n.] possono essere suddivisi, sulla base della struttura chimica in diverse classi (Serra e Gessa, 1990): 1) le fenotiazine; 2) i tioxanteni; 3) i butirrofenoni; 4) le difenilbutilpiperidine.

Da ricordare inoltre le benzamidi sostituite (sulpiride [v.], metoclopramide [v.], etc.), le benzoxazepine (loxapine), le dibenzazepine (clozapina), e gli indoli (molindone).

Le fenotiazine (v. FENOTIAZINA, DERIVATI DELLA) possono essere a loro volta suddivise, in base alla struttura chimica del sostituente in posizione 10, in fenotiazine alifatiche o propilaminiche (ad es. clorpromazina [v.]), piperidiniche (ad es., tioridazina), piperaziniche (ad es. flufenazina).

Anche i tioxanteni, che differiscono dalle fenotiazine solo per avere nell'anello centrale un atomo di carbonio al posto dell'atomo di azoto, possono suddividersi in base al sostituente in posizione 10 in alifatici e piperazinici.

Per i butirrofenoni e la loro formula di struttura, si rinvia alle voci BUTIRROFENONI (III, 456) e ALOPERIDOLO (I, 1356).

Il prototipo delle difenilbutilpiperidine è la pimozide, cui si rinvia (v. PIMOZIDE, XI, 2116).

Da ricordare infine i composti *long-acting*, costituiti da un n. esterificato con un acido grasso a lunga catena, che, somministrati per via intramuscolare, vengono rilasciati lentamente dal luogo di iniezione e con una singola iniezione assicurano livelli plasmatici efficaci per due o più settimane.

### Farmacocinetica

I n. vengono generalmente somministrati per via orale e vengono assorbiti, sebbene in maniera erratica e incompleta, dal tubo gastroenterico. Un assorbimento più regolare si ottiene quando si somministrano preparazioni liquide. La biodisponibilità varia notevolmente tra i diversi composti (si può andare dal 65% circa dell'aloperidolo al 25-35% circa della clorpromazina). L'attività di questi farmaci aumenta di circa quattro volte quando vengono somministrati per via parenterale.

Si legano per il 90% circa alle proteine plasmatiche ed essendo molto liposolubili si distribuiscono molto bene in tutti i tessuti e attraversano bene la barriera placentare.

Ancora oggi non si è riusciti a stabilire con esattezza una correlazione tra livelli plasmatici ed effetto clinico di questi farmaci.

La loro emivita è compresa tra le 20 e le 40 h. Vengono metabolizzati soprattutto a livello epatico (vengono ossidati e per la maggior parte glicuronoconiugati) ed eliminati con le urine.

### Meccanismo d'azione

Si ritiene che l'effetto antipsicotico e gli effetti collaterali di tipo neurologico dei n. siano dovuti alla loro capacità di bloccare i recettori della dopamina (DA) nel S.N.C. e di impedire quindi a questo neurotrasmettitore di interagire col suo recettore.

Rinviamo per la fisiologia della trasmissione dopaminergica e la biologia molecolare dei recettori della dopamina alle voci DOPA E DOPAMINA (V, 573-583), DOPA E DOPAMINA* (2273-2276).

#### *Recettori della dopamina (DA)*

Si riteneva fino a qualche mese fa che esistessero solo due tipi di recettori della DA, denominati $D_1$ e $D_2$ (Creese, 1987). Recentemente, grazie alla biologia molecolare, si è scoperto che la famiglia dei recettori della DA è molto più numerosa e comprende almeno cinque tipi di recettori (*Neuroscience Facts*, 1991). Gli studi finora eseguiti sul meccanismo d'azione dei n. riguardano comunque solo il ruolo dei recettori $D_1$ e $D_2$.

Dal punto di vista della localizzazione, i recettori della DA possono essere distinti in recettori postsinaptici e recettori presinaptici o autorecettori. Questi ultimi sono localizzati nelle terminazioni nervose, sui dendriti e sul corpo cellulare dei neuroni dopaminergici. Il loro ruolo fisiologico sembra essere quello di impedire una eccessiva attività del neurone dopaminergico (Di Chiara *et al.*, 1978). La loro stimolazione infatti si traduce in una inibizione della sintesi e della liberazione di DA e dell'attività elettrica del neurone dopaminergico.

#### *Blocco dei recettori $D_2$*

Tutti i farmaci ad attività antipsicotica (fatta eccezione per la reserpina, un farmaco che svuota i neuroni monoaminergici del loro neurotrasmettitore) hanno in comune la capacità di bloccare i recettori della DA di tipo $D_2$ nel S.N.C. con una potenza proporzionale alla loro efficacia clinica (Creese *et al.*, 1976; Seeman *et al.*, 1976).



Digitized by Google

Si ritiene quindi che l'effetto antipsicotico di questi farmaci dipenda dal blocco dei recettori $D_2$. Al contrario, poiché alcuni n. clinicamente efficaci non bloccano (come per es. il sulpiride) o bloccano solo debolmente i recettori $D_1$, si è ipotizzato che il blocco dei recettori $D_1$ non abbia importanza per l'effetto antipsicotico di questi farmaci.

Oltre alla dimostrazione diretta (con le tecniche di *binding*) del legame dei n. col recettore della DA, una evidenza indiretta del blocco dei recettori della DA da parte di questi farmaci è costituita dalla osservazione che essi antagonizzano gli effetti dei farmaci DA-mimetici sia nell'animale sia nell'uomo (Leysen, 1982).

*Blocco dei recettori della DA nei diversi sistemi: conseguenze funzionali*

Come si è già accennato, il blocco dei recettori della DA nei diversi sistemi dopaminergici del S.N.C. spiega sia gli effetti collaterali sia gli effetti terapeutici dei n.

Il blocco dei recettori della DA nel sistema nigrostriatale è responsabile della sindrome simil-parkinsoniana che si osserva nei pazienti sotto trattamento con questi farmaci. L'iperprolattinemia che si osserva in corso di trattamento con n. è la conseguenza del blocco dei recettori della DA nell'ipofisi. Questo effetto infatti si può osservare anche quando si somministrano bloccanti dei recettori della DA che non attraversano la barriera ematoencefalica. L'effetto antiemetico dei n. è dovuto al blocco dei recettori della DA nella CTZ (*chemoreceptor trigger zone*). Il sistema mesolimbico-corticale è quello che verosimilmente è maggiormente implicato nel controllo delle emozioni e delle funzioni cerebrali superiori. Si ritiene quindi che il blocco dei recettori della DA di questo sistema sia il responsabile dell'effetto antipsicotico dei n.

*Effetto del blocco dei recettori della DA sull'attività del neurone dopaminergico*

La somministrazione acuta di n. provoca un aumento dell'attività elettrica del neurone dopaminergico, della sintesi e della liberazione di DA (Imperato e Di Chiara, 1985; Scatton, 1977; Bunney e Grace, 1978). Questi effetti sono dovuti al blocco sia dei recettori postsinaptici sia di quelli presinaptici o autorecettori. In seguito al blocco dei recettori postsinaptici infatti il neurone denervato segnala il mancato arrivo del neurotrasmettitore al neurone dopaminergico, che nel tentativo di superare il blocco aumenta la sua attività. Il blocco dei recettori presinaptici previene invece l'effetto inibitorio della DA liberata in eccesso sulla attività del neurone dopaminergico.

Dopo un trattamento cronico con n. si instaura tolleranza all'effetto stimolante sull'attività del neurone dopaminergico (Bunney e Grace, 1978; Bannon *et al.*, 1982; White e Wang, 1983). Poiché l'effetto clinico dei n. si manifesta dopo qualche settimana di trattamento, si è ipotizzato che questa latenza consista nel tempo necessario perché si instauri la tolleranza.

Recentemente è stato osservato da alcuni AA. che dopo trattamento cronico con n. non solo subentra tolleranza all'effetto stimolante l'attività elettrica del neurone dopaminergico, ma si ha addirittura un blocco dell'attività elettrica del neurone secondario ad una persistente depolarizzazione (*blocco da depolarizzazione*) (Bunney, 1984). È stato ipotizzato che questo fenomeno sia alla base dell'effetto antipsicotico dei n.

Dopo un trattamento cronico con n. i recettori della DA diventano supersensibili a causa della persistente denervazione funzionale (Serra *et al.*, 1981; Gallagher *et al.*, 1978; Newgreen *et al.*, 1986; Tarsy e Baldessarini, 1976; Burt e Creese, 1977). Lo sviluppo di supersensibilità degli autorecettori contribuisce all'instaurarsi della tolleranza agli effetti stimolanti sull'attività del neurone dopaminergico, perché questo riacquista la capacità di autoinibirsi. Si può quindi ipotizzare che lo sviluppo di supersensibilità dell'autorecettore contribuisca ad inibire la trasmissione dopaminergica e quindi sia importante per l'effetto antipsicotico. D'altra parte è opportuno ricordare che la stimolazione selettiva degli autorecettori mediante la somministrazione di basse dosi di farmaci DA-mimetici ha un effetto antipsicotico (Corsini *et al.*, 1977).

Lo sviluppo di supersensibilità dei recettori postsinaptici della DA può spiegare alcuni fenomeni che si manifestano in seguito alla sospensione di un trattamento cronico con n. come le discinesie tardive e le «psicosi da supersensibilità» (Chouinard *et al.*, 1978).

**Effetti collaterali**

*Disturbi di tipo neurologico*

I principali effetti collaterali dei n. sono rappresentati dai disturbi motori di tipo extrapiramidale. Questi effetti sono dovuti al blocco dei recettori della DA nel sistema nigrostriatale, che scatena una iperattività dei neuroni colinergici che sono normalmente sotto un controllo tonico inibitorio da parte della DA. La maggior parte dei disturbi extrapiramidali da n. viene pertanto attenuata dalla somministrazione di farmaci anticolinergici. Inoltre, i n. che di per sé possiedono anche una spiccata attività anticolinergica (per es. la tioridazina o la clozapina) presentano una ridotta capacità di provocare effetti extrapiramidali.

1. *La sindrome simil-parkinsoniana.* – I n. provocano frequentemente una sindrome caratterizzata dalla presenza di bradicinesia, rigidità e tremori, che, per la sua somiglianza col morbo di Parkinson, viene definita sindrome simil-parkinsoniana (Marsden *et al.*, 1986). I sintomi di questa sindrome possono manifestarsi già dopo qualche giorno di trattamento, ma più frequentemente compaiono dopo qualche settimana. Si manifesta in circa il 20-40% delle persone trattate ma la frequenza sembra essere direttamente proporzionale alla dose e all'età del paziente. I sintomi della sindrome simil-parkinsoniana da n. rispondono bene alla somministrazione di farmaci antiparkinsoniani anticolinergici.

2. *Crisi neurodislettiche.* – Le crisi neurodislettiche (o discinesie precoci o distonie acute) sono dovute a contrazioni toniche dei muscoli del collo, della faccia, del cingolo scapolare, etc. A seconda dei muscoli interessati possiamo avere pertanto diverse manifestazioni cliniche (crisi oculogire, trisma, torcicollo, etc.) (Rupniak *et al.*, 1981). Esse compaiono nei primi giorni di trattamento, generalmente nelle prime 12-36 h dall'inizio della somministrazione del farmaco. Anche questi disturbi sono tanto più frequenti quanto più alto è il dosaggio impiegato ma, a differenza della sindrome simil-parkinsoniana, sono più osservati nei giovani. Le crisi neurodislettiche rispondono bene al trattamento con farmaci anticolinergici, che, nei casi più gravi, possono essere somministrati per via parenterale.

3. *Acatisia.* – Con questo termine ci si riferisce a quell'effetto dei n. caratterizzato da uno stato di irrequietezza motoria che si traduce generalmente nella impossibilità per il paziente di stare seduto o sdraiato (Tarsy, 1984).

Si manifesta generalmente dopo qualche giorno o settimana di trattamento e, date le sue caratteristiche cliniche, può essere talvolta scambiata per un aggravarsi della agitazione psicotica. L'incidenza del disturbo è proporzionale al dosaggio ma non è influenzata dall'età del paziente.

A differenza degli altri disturbi extrapiramidali, l'acatisia



Digitized by Google

risponde poco agli anticolinergici. Utile è la somministrazione di benzodiazepine o di basse dosi di propranololo.

4. *La sindrome del coniglio.* – È molto rara ed è caratterizzata da un tremore localizzato alla regione periorale che assomiglia ai movimenti masticatori del coniglio e per questo denominata sindrome del coniglio (Tarsy, 1984). Si manifesta dopo mesi o anni di trattamento e risponde alla somministrazione di anticolinergici.

5. *Discinesie tardive.* – A differenza degli effetti che abbiamo finora considerato e che scompaiono con la interruzione del trattamento, le discinesie tardive compaiono quando un trattamento cronico con n. viene interrotto o se ne riduce il dosaggio. Esse infatti dipendono, non dalla azione diretta dei n., ma da modificazioni dei recettori della dopamina conseguenti al loro blocco cronico da parte dei n. stessi (Casey, 1987).

Esse sono da considerarsi il più grave effetto collaterale di una terapia a lungo termine con n. non solo per la gravità dei disturbi ma anche perché non esistono efficaci presidi terapeutici e perché possono talvolta essere irreversibili.

Si manifestano con movimenti involontari abnormi che possono interessare diversi distretti muscolari (sindrome bucco-linguo-mandibolare, *tics* facciali, emiballismo, etc.).

L'unico trattamento realmente efficace è la prevenzione delle forme irreversibili che si può attuare con il riconoscimento dei primi segni e la conseguente sospensione della terapia quando questo sia possibile. La possibilità che si manifesti una discinesia tardiva deve inoltre sconsigliare l'uso dei n. per lunghi periodi al di fuori dei casi in cui essi siano realmente necessari (v. anche: DISCINESIA TARDIVA*).

6. *La sindrome maligna da neurolettici.* – È una sindrome molto grave e talvolta fatale (20-30% dei casi), caratterizzata da iperpiressia e rigidità muscolare, che assomiglia alla ipertermia maligna conseguente alla somministrazione di alcuni anestetici e di succinilcolina (Pope *et al.*, 1986). Si manifesta in modo repentino, generalmente dopo qualche giorno o settimana dall'inizio della terapia.

Sebbene sia stata finora considerata una evenienza molto rara, recenti studi hanno dimostrato che in un anno più dell'1% dei pazienti in trattamento possono presentare tale patologia. Data la gravità della sindrome (V. NEUROLETTICA MALIGNA SINDROME*), essa deve essere tenuta ben presente anche perché può essere confusa con lo stupore catatonico.

Il trattamento consiste nella pronta sospensione del n. e nel controllo delle funzioni vitali. Tra i farmaci, quelli che finora hanno dato i risultati più incoraggianti sono il dantrolene ([v.*] un farmaco miorilassante efficace anche nella ipertermia maligna da anestetici e succinilcolina) e la bromocriptina.

*Disturbi di tipo psichico*

Tra i sintomi psichici di questi farmaci vanno ricordati una eccessiva sedazione, l'ottundimento o appiattimento affettivo e la possibilità di precipitare una depressione (Adwards, 1986).

Recentemente sono stati osservati alcuni casi di peggioramento della sintomatologia psicotica in seguito alla sospensione di un trattamento prolungato con n. Questi quadri psicotici sono stati definiti «psicosi da supersensibilità» perché si ritiene che siano dovuti allo sviluppo di una supersensibilità da denervazione chimica dei recettori dopaminergici a lungo bloccati dai n. (Chouinard e Jones, 1984).

*Disturbi endocrini*

L'iperprolattinemia, accompagnata frequentemente da galattorrea e amenorrea nella donna e da impotenza e ginecomastia nell'uomo, è il principale disturbo endocrino provocato dai n. Essa è dovuta al blocco dei recettori della DA nelle cellule mammotrope dell'adenoipofisi.

*Altri effetti collaterali*

Tra gli altri disturbi che possono essere causati dai n. è da ricordare la ipotensione ortostatica, che si manifesta soprattutto quando si usano le fenotiazine alifatiche. Da ricordare inoltre i disturbi sessuali, quali diminuzione della *libido*, impotenza, disturbi della eiaculazione (inibizione della eiaculazione, eiaculazione retrograda).

Palpitazioni, secchezza delle fauci, annebbiamento del *visus*, stipsi, difficoltà della minzione sono dovuti all'azione anticolinergica dei n. e sono quindi di più frequente osservazione quando si usano i n. che hanno maggiori proprietà anticolinergiche.

Raramente infine possono osservarsi ittero colestatico, agranulocitosi (è molto rara ma grave ed impone la sospensione del trattamento), reazioni allergiche, retinopatia pigmentosa (solo con l'uso di dosi superiori a 1000 mg/*die* di tioridazina).

Da segnalare infine che sono stati riportati casi di morti improvvise durante il trattamento con n. sebbene qualche A. dubiti che siano da attribuire realmente all'effetto di questi farmaci.

**Uso clinico**

Il principale uso clinico dei n. è il trattamento delle psicosi schizofreniche e di altra natura e dell'eccitamento maniacale (Hollister, 1981).

Nel 75% dei casi i n. portano alla completa scomparsa dei sintomi positivi o produttivi (deliri, allucinazioni, etc.) della schizofrenia. Scarso effetto hanno invece nei confronti dei sintomi negativi (autismo, impoverimento ideativo, etc.). L'effetto clinico nei confronti dei sintomi psicotici non è immediato ma si manifesta in genere nel giro di qualche settimana.

L'effetto dei n. è sintomatico. Essi infatti, sebbene siano capaci di prevenire le ricadute o esacerbazioni acute della schizofrenia, non sono in grado di arrestare l'evoluzione della malattia (Hirsch, 1986; Torrey, 1986; Liden *et al.*, 1984). L'effetto antipsicotico dei n. non è specifico per la schizofrenia. Essi infatti agiscono bene anche come antimaniacali e sui sintomi psicotici, specialmente deliri e allucinazioni, a prescindere dalla loro natura.

Questi farmaci possono pertanto essere impiegati con eguale successo non solo nella schizofrenia e nella mania ma anche nei disturbi paranoidei o altri quadri psicotici quali disturbi schizofreniformi e schizoaffettivi, psicosi reattive, psicosi atipiche ed anche nelle psicosi organiche o causate da sostanze quali, per es., cocaina e anfetamina.

**Bibliografia**

Adwards G. J., in *The Psychopharmacology and Treatment of Schizophrenia*, Bradley P. B., Hirsch S. R. eds., 1986, Oxford Univ. Press, Oxford, pp. 403-411.
Bannon M. J., Reinhard J. F. jr., Bunney E. B., Roth R. H., *Nature*, 1982, **296**, 444.
Bunney B. S., Grace A. A., *Life Sci.*, 1978, **23**, 1715-1724.
Bunney B. S., *TINS*, 1984, **6**, 212.
Burt D. R., Creese I., *Science*, 1977, **196**, 326.
Casey D. E., in *Psychopharmacology: A Third Generation of Progress*, Meltzer H. Y. eds., 1987, Raven Press, New York, pp. 1411-1419.
Chouinard G., Jones B. D., Annable L., *Am. J. Psych.*, 1978, **11**, 1409.
Chouinard G., Jones B. D., in *Guidelines for the Use of Psychotropic Drugs*, Stancer H. C., Garfinkel P. E., Rakoff V. M. eds., 1984, MTP Press Ltd., Lancaster, pp. 205-277.
Corsini G. U., Del Zompo M., Manconi S., in *Advances in Biochemical Psychopharmacology*, vol. 16, Costa E., Gessa G. L. eds., 1977, Raven Press, New York, pp. 645-648.
Creese I., Burt D. R., Snyder S. H., *Science*, 1976, **192**, 481.





Digitized by Google

Creese I., in *Psychopharmacology: The Third Generation of Progress*, Meltzer H. Y. eds., 1987, Raven Press, New York, pp. 257-264.
Di Chiara G., Corsini G. U., Mereu G., Tissari A., Gessa G. L., in *Advances in Biochemical Psychopharmacology*, vol. 19, Roberts P. J. *et al.* eds., 1978, Raven Press, New York, pp. 275-282.
Gallagher D. W., Pert A., Bunney W. E. H., *Nature*, 1978, **273**, 309.
Hirsch S. R., in *The Psychopharmacology and Treatment of Schizophrenia*, Bradley P. B., Hirsch S. R. eds., 1986, Oxford Univ. Press, Oxford, pp. 286-339.
Hollister L. E., in *Farmacologia clinica e farmacoterapia principi e pratica*, Avery G. S., Tognoni G. eds., 1981, Pensiero Scientifico, Roma, pp. 989-1051.
Imperato A., Di Chiara G., *J. Neurosci.*, 1985, **5**, 297.
Leysen J. E., in *Clinical Pharmacology in Psychiatry: Neuroleptic and Antidepressants Research*, Usdin E., Dahl S., Gram L. F., Lingjaerde O. eds., 1983, Macmillan, Bansingtoke, pp. 35-78.
Liden R., Davis J. M., Rubinstein J., in Stancer H. C., Garfinkel P. E., Rakoff V. M. eds., *Guidelines for the Use of Psychotropic Drugs* - A Clinical Handbook, 1984, MTP Press Ltd., Lancaster, pp. 151-168.
Marsden C. D., Mindham R. H. S., Mackay A. V. P., in *The Psychopharmacology and Treatment of Schizophrenia*, Bradley P. B., Hirsch S. R. eds., 1986, Oxford Univ. Press, Oxford, pp. 340-402.
*Neuroscience Facts*, 25 July 1991, vol. 2, n. 15.
Pope H. G. jr., Keck P. E., McElroy S. L., *Am. J. Psych.*, 1986, **10**, 1227-1233.
Rupniak N. M. J., Jenner P., Marsden C. D., *Neurology*, 1981, **31**, 434.
Scatton B., *Eur. J. Pharmacol.*, 1977, **46**, 363.
Seeman P., Lee T., Chau-Wong M., Wong K., *Nature*, 1976, **261**, 717.
Serra G., Gessa G. L., *Manuale di psicofarmacologia*, 1990, Masson, Milano.
Serra G., Argiolas A., Gessa G. L., in *Apomorphine and Other Dopaminomimetics: Basic Pharmacology*, Gessa G. L., Corsini G. U. eds., 1981, Raven Press, New York, pp. 133-142.
Tarsy D., Baldessarini R. J., *Nature*, 1976, **292**, 167.
Tarsy D., *Psych. Clin. North Am.*, 1984, **3**, 435-471.
Torrey E. F., *Psych. Clin. North Am.*, 1986, **1**, 143-151.
White F. J., Wang R. Y., *Life Sci.*, 1983, **32**, 983.

GINO SERRA E GIAN LUIGI GESSA

## NEUROSCIENZE

F. *neurosciences*. - I. *neurosciences*. - T. *Neurowissenschaften*. - S. *neurociencias*.

SOMMARIO



### Introduzione

Le neuroscienze sono probabilmente, insieme alla biologia molecolare, il settore che ha conosciuto la maggiore espansione tra le discipline biomediche nel corso dell'ultimo decennio. Si tratta di una disciplina ibrida, che spazia dagli studi sul sistema nervoso degli invertebrati a quelli sull'uomo, dalla neurobiologia alla psicobiologia, dalla fisiologia del sistema nervoso alla patologia.

Un indice della rapida evoluzione delle n. è fornito dalla crescita delle associazioni scientifiche che raccolgono i ricercatori attivi in questo settore. Negli U.S.A., per es., la Society for Neuroscience nasce nel 1971 con meno di 2000 associati mentre oggi essi ammontano a più di 10.000 che ogni anno si radunano in un congresso che testimonia dei recenti sviluppi in questo settore. All'inizio degli anni '70 nasce in Europa la European Neuroscience Association, forte di circa 3000 soci e nel 1983 viene costituita la Società Italiana per le Neuroscienze alle cui riunioni prendono parte circa un migliaio di ricercatori.

Se si considera ora quali sono state le tappe fondamentali dello sviluppo delle n. ci si può rendere conto, come vedremo in seguito, che questa disciplina va incontro a una crescita esponenziale con gli anni '50 e che questa crescita è fortemente legata alla disponibilità di metodiche, tecnologie e strumenti di analisi nuovi, mediati dalla fisica e dalla chimica. Tuttavia una pietra miliare nello sviluppo delle n. può essere considerata la scoperta del neurone: prima di essa le n. non erano unificate da un asse portante, quello neurobiologico-neurochimico, ed erano frammentate in diverse componenti: quella clinica, improntata alla neurologia, quella anatomopatologica, quella fisiologica e quella comparata, fondata su un approccio evolutivo allo studio del sistema nervoso.

Fu in seguito alla scoperta del neurone da parte di Camillo Golgi e Francisco Cajal, che gli studiosi del sistema nervoso si trovarono di fronte un panorama completamente nuovo. L'aver individuato le cellule costituenti il cervello e l'aver compreso che i neuroni non formavano una rete ininterrotta ma che tra neurone e neurone vi era una sottile interruzione, come sosteneva Cajal (1906), pose nuovi interrogativi sulle modalità della conduzione nervosa e portò alla scoperta dei «messaggeri nervosi».

### La scoperta dei neurotrasmettitori

L'acetilcolina (v.; v.*) è il primo dei diversi messaggeri nervosi, o neurotrasmettitori (v.*), scoperti dall'inizio del Novecento: prodotta dalle cellule nervose colinergiche, questa molecola assicura la conduzione nervosa da una faccia all'altra della fessura sinaptica trasformando un segnale elettrico in uno di tipo chimico. Malgrado i fisiologi avessero indicato sin dai primi del Novecento che i neurotrasmettitori erano responsabili dell'attraversamento della sinapsi nervo-muscolo da parte del segnale nervoso, fu necessario attendere alcuni decenni perché fosse provato che gli stessi fenomeni si verificano anche a livello cerebrale e perché si affermasse completamente una concezione secondo cui le diverse funzioni cerebrali dipendono strettamente da un gioco tra neuromediatori e modulatori a livello della sinapsi.

Negli anni '30 si verificò tra i fisiologi (capeggiati da J. C. Eccles) e i farmacologi (capeggiati da H. Dale) una contesa sulle modalità della trasmissione sinaptica. I fisiologi, infatti, ritenevano che tutte le sinapsi fossero elettriche e che il flusso di corrente prodotto dal neurone attraversasse lo spazio sinaptico per eccitare l'elemento postsinaptico, muscolo o neurone; i farmacologi, invece, ritenevano che tutte le sinapsi si scambiassero l'informazione mediante molecole, i mediatori nervosi. Quando, intorno agli anni '50, furono disponibili raffinate tecniche elettrofisiologiche e biochimiche, fu evidente che soltanto alcune sinapsi particolari utilizzano la conduzione elettrica, mentre la maggior parte utilizza un mediatore nervoso, si basa cioè su una trasmissione neuro-ormonale (J. C. Eccles, 1964; P. Fatt e B. Katz, 1951).

Il concetto di trasmissione neuro-ormonale, oggi consolidato nelle n., si è affermato lentamente a partire dalle osservazioni condotte da J. N. Langley (1901) all'inizio di questo secolo, quando egli osservò che la stimolazione dei nervi simpatici o l'iniezione di estratti della ghiandola surrenale producevano effetti simili. Pochi anni dopo, nel 1905, il fisiologo T. R. Elliott sostenne che in seguito a un impulso nervoso i nervi simpatici liberavano minime quantità di sostanze simili a quelle dei surreni (adrenalina) che, venendo a contatto con l'organo effettore, lo stimolavano. Per es., stimolando i nervi simpatici che innervano il cuore si produceva un'accelerazione del ritmo cardiaco. Egli notò anche che, se i nervi simpatici venivano tagliati, gli organi



Digitized by Google

effettori continuavano a rispondere alle sostanze contenute negli estratti di surrene (che al loro interno contengono adrenalina) e ipotizzò che gli organi effettori contenessero delle «sostanze recettrici» sensibili a molecole simili contenute nei nervi simpatici e nei surreni.

Mentre Elliott si concentrava sulla sezione simpatica del sistema nervoso vegetativo, altri studiosi prendevano in esame quella parasimpatica che esercita sull'organismo — cuore, intestino, ghiandole — effetti opposti a quelli del simpatico. In quegli stessi anni, sempre il fisiologo inglese H. Dale (1914) notò che una sostanza chimica, l'acetilcolina, produceva effetti in tutto simili all'azione del sistema nervoso parasimpatico e ne dedusse che l'acetilcolina riproduceva l'azione dei nervi del parasimpatico e che essa doveva essere rapidamente inattivata da un enzima — l'acetilcolinesterasi — che la idrolizzava in ac. acetico e colina. Le osservazioni e le teorie di Dale vennero riprese dal fisiologo tedesco O. Loewi (1921) sul cuore isolato di rana. Questi isolò una sostanza che definì col termine di *Vagusstoff* (sostanza vagale) e dimostrò che corrispondeva alla acetilcolina. A seguito di questa e di altre ricerche, Dale dimostrò, negli anni '30, che l'acetilcolina era il mediatore del sistema nervoso parasimpatico (perciò detto colinergico) periferico, mentre W. Feldberg dimostrò pochi anni dopo che anche a livello cerebrale esistevano dei neuroni colinergici.

Negli anni '20 vennero riprese le osservazioni originali condotte da Langley e da Elliott sul sistema simpatico: W. B. Cannon e J. E. Uridil postularono nel 1921 che il sistema simpatico contenesse una sostanza, la *simpatina*, i cui effetti sarebbero stati simili a quelli dell'epinefrina (o adrenalina) di origine surrenale, producendo, per es., un'accelerazione del ritmo cardiaco. Nel 1946 il fisiologo svedese U. S. von Euler identificò questa sostanza con la noradrenalina (o epinefrina demetilata) che venne isolata nei nervi simpatici, nei surreni (che contengono soprattutto adrenalina) e in seguito nei neuroni noradrenergici cerebrali. Veniva perciò dimostrato che le stesse molecole o molecole molto simili — come l'adrenalina e la noradrenalina — erano contenute nei surreni e nei neuroni simpatici centrali e periferici.

A partire dall'inizio degli anni '50 vennero isolati numerosi altri mediatori nervosi: nel 1946, a seguito degli studi pionieristici del farmacologo italiano V. Erspamer sulla cosiddetta *enteramina*, prodotta dalle cellule cromaffini dell'intestino, veniva definito il meccanismo d'azione di un nuovo mediatore, ribattezzato col termine di serotonina — o 5-idrossitriptamina (v. TRIPTAMINA-5-IDROSSI*) — alla cui scoperta hanno contribuito gli studi di M. M. Rapport. Da allora le ricerche sui mediatori nervosi (dopamina, GABA, aminoacidi, etc.) hanno conosciuto uno sviluppo senza precedenti e, grazie a complesse tecniche di biochimica, di istologia e di elettrofisiologia, è stato riconosciuto il ruolo critico che diverse molecole giocano nella neurotrasmissione a livello cerebrale (J. C. Eccles, 1964) e sono stati mappati i circuiti nervosi cerebrali formati da neuroni che producono un particolare mediatore nervoso o neurotrasmettitore.

Gli studi sui neurotrasmettitori (v.*), cioè sulle molecole liberate dalle sinapsi dei neuroni per eccitare o deprimere altri neuroni o organi effettori, hanno ovviamente sollevato interrogativi sulle caratteristiche dei siti su cui agiscono i trasmettitori. Nella sua *Croonian lecture* del 1900, Paul Ehrlich aveva ipotizzato, parlando delle reazioni immunitarie, che le sostanze prodotte dall'organismo esercitino un'azione sui tessuti in quanto: «Stabiliscono relazioni intime. Questa relazione è specifica. I gruppi chimici si adattano l'un l'altro come la serratura e la chiave». Questa metafora del grande immunologo fu ripresa da Langley che ipotizzò che l'acetilcolina agisse sul muscolo in quanto esisteva un recettore per l'acetilcolina sulla superficie muscolare. La teoria del recettore venne sviluppata in seguito da H. Dale e lo studio dei recettori acetilcolinici venne intrapreso, a partire dagli anni '50, da D. Nachmanson (1959) e in seguito dai suoi allievi, A. Karlin e J.-P. Changeux.

Gli studi sui recettori (v.; v.*) hanno dimostrato che le cellule rispondono ai segnali chimici, come ormoni o neurotrasmettitori, in quanto la membrana che le riveste è provvista di molecole proteiche che si legano con una specifica molecola — il mediatore nervoso — o con una molto simile. Queste proteine, che fanno parte della membrana che avvolge la cellula dandole forma e isolandola dallo esterno, sono definite recettori. I recettori hanno un'elevata affinità per la molecola con cui interagiscono che, proprio come Ehrlich aveva previsto, va a incastrarsi su una determinata proteina della membrana cellulare come una chiave si inserisce nella toppa di una serratura. Tuttavia la stessa molecola chimica può inserirsi, a seconda della cellula, su proteine lievemente differenti; ciò comporta che su un tipo di cellula una data molecola eserciti degli effetti diversi rispetto a quelli che essa esercita su un'altra cellula. Per es., il neurotrasmettitore acetilcolina, agendo su due diversi tipi di proteina recettore, stimola la contrazione delle cellule dei muscoli scheletrici, ma deprime la contrazione delle cellule del muscolo cardiaco. Qualcosa di simile si verifica anche a livello dei neuroni: alcuni di essi hanno dei recettori su cui il mediatore nervoso agisce producendo effetti eccitatori e altri hanno dei recettori su cui lo stesso mediatore può produrre effetti inibitori. È questo il caso, per es., dei recettori colinergici di tipo muscarinico e nicotinico che svolgono effetti opposti.

Negli anni '80 i recettori colinergici sono stati descritti sia dal punto di vista morfologico che dal punto di vista della loro struttura molecolare da diversi gruppi di ricerca, tra cui quello di S. Numa in Giappone e quello di J. P. Changeux in Francia (v. anche MEDIATORI CHIMICI, IX, 668; MEDIATORI CHIMICI*).

### Neuromodulatori e fattori di crescita

La scoperta che l'azione del neurotrasmettitore è condizionata dalla presenza di altre sostanze, chiamate *modulatori*, rappresenta un altro importante risultato nell'ambito delle n. Tra i vari modulatori, gli *oppioidi endogeni* svolgono un ruolo molto importante sul recettore nervoso e la loro scoperta ha rappresentato un enorme passo avanti nella conoscenza dei meccanismi neuronali e delle basi biochimiche del comportamento.

Intorno alla metà degli anni '70 tre ricercatori, J. Hughes, H. Kosterlitz (1975) e R. Guillemin (1978), trovarono la risposta a un enigma che aveva appassionato per diversi anni gli studiosi di n. I neurobiologi si domandavano infatti come mai molecole estranee al nostro organismo, quali la morfina o l'eroina, esercitassero la loro azione analgesica e comportamentale. Essi postularono che i derivati dell'oppio occupassero dei «siti» recettoriali predisposti per interagire con molecole endogene, cioè prodotte dal nostro organismo. Hughes, Kosterlitz e Guillemin riuscirono a isolare queste molecole che chiamarono «endorfine», peptidi che si fissano su alcuni recettori nervosi specifici per gli oppiacei.

Come le endorfine, anche altri neuromodulatori esplicano la loro azione in quanto attivano o inibiscono enzimi che servono per fabbricare un «secondo messaggero» nervoso, cioè molecole con una struttura «ciclica» come lo adenosin monofosfato ciclico (AMPc) o il guanosin mono-



Digitized by Google

fosfato ciclico (GMPc). Queste molecole cicliche rispondono all'azione congiunta del mediatore e del modulatore nervoso sul recettore. Le molecole «cicliche» possono non soltanto stimolare o limitare il metabolismo della cellula nervosa, ma anche modificare l'apertura o la chiusura dei canali della membraaa attraverso cui entrano ed escono gli ioni sotto l'azione della molecola del neurotrasmettitore. Il gioco delle molecole a livello del recettore è quindi più complesso di quanto non si ritenesse quando si consideravano esclusivamente gli effetti del solo neurotrasmettitore.

Nell'ambito degli studi sui recettori nervosi occupano un posto particolare quei recettori su cui non agiscono i mediatori nervosi, ma molecole diverse, come quelle ad azione «trofica». Queste non veicolano segnali utili alla comunicazione ma, sempre agendo su appositi recettori, fanno sì che le cellule crescano e sopravvivano. Nel corso dello sviluppo, la crescita e la sopravvivenza di alcune cellule nervose dipende dal «fattore di accrescimento del nervo» (*nerve growth factor*, o NGF), una proteina scoperta da R. Levi-Montalcini e S. Cohen (1952) che, tra l'altro, viene secreta dalle cellule-bersaglio di alcune cellule nervose. Il NGF esercita la sua azione su cellule nervose immature appartenenti al sistema simpatico e coltivate *in vitro*, come hanno indicato le prime ricerche della Levi-Montalcini. Sotto l'azione del fattore di crescita, i neuroni sviluppano una folta chioma di prolungamenti dendritici (v. anche: NERVOSO TESSUTO, *nerve growth factor*, X, 733; NERVOSO TESSUTO*, *nerve growth factor*).

Ricerche successive hanno dimostrato che, mentre normalmente i neuroni in corso di sviluppo che non riescano a formare la giunzione sinaptica con le proprie cellule bersaglio muoiono, essi invece possono sopravvivere se nel tessuto nervoso viene iniettato del NGF. Infine, se si iniettano dei topolini appena nati con anticorpi anti-NGF, che neutralizzano l'azione di questo fattore di crescita, si verifica una morte selettiva di numerosi neuroni simpatici.

Il NGF, che si fissa su appositi recettori localizzati sulla superficie neuronale, non è importante soltanto per assicurare la sopravvivenza delle cellule simpatiche, ma anche per dirigerne le fibre nervose verso le cellule bersaglio che, in condizioni normali, le attraggono producendo NGF. Ma il NGF e altri fattori «neurotrofici» agiscono anche sulle cellule nervose del S.N.C., per es. su quelle colinergiche. I fattori neurotrofici giocano un ruolo critico soprattutto nei processi di plasticità, cioè in tutte quelle situazioni dove si verifica una ristrutturazione dell'architettura del sistema nervoso per formare nuovi circuiti o per riparare i danni che derivano da lesioni diverse. Al NGF e a molecole simili è stato inoltre attribuito un ruolo nei processi psiconeuroimmunologici, che sono al centro di importanti meccanismi psicosomatici.

**I progressi di neurofisiologia e neuroradiologia**

Le ricerche fin qui esposte rappresentano la base neurobiologica e neurofisiologica che ha consentito di edificare il complesso edificio delle n. attuali. Va notato a questo punto che gli studi sulla fisiologia dei neuroni, sulle caratteristiche dei mediatori e dei recettori, sullo sviluppo neuronale, sulle modalità attraverso cui i neuroni costituiscono reti funzionali hanno potuto conoscere notevoli e crescenti successi grazie alla disponibilità di tecniche che hanno, per es., consentito inizialmente di registrare l'attività elettrica cerebrale con elettrodi disposti sulla superficie cranica o a contatto con aree superficiali e profonde del cervello (J. Berger, 1929), e, in seguito, l'attività dei singoli neuroni spingendo sottili elettrodi dentro la cellula, i potenziali elettrici a livello delle singole sinapsi (P. Fatt e B. Katz, 1951), i potenziali di azione, correlandoli con i cambiamenti del sodio e potassio a livello della fibra nervosa (K. S. Cole e H. J. Curtis, 1939; A. L. Hodgkin e B. Katz, 1949), fino alle complicate misurazioni delle variazioni di corrente di un singolo canale del sodio a livello della membrana nervosa (tecnica del *patch clamp* o del tassello; B. Sakman e E. Neher, 1983). Per contro, sono state messe a punto altre tecniche che hanno permesso, non di registrare, ma di stimolare con elettrodi aree nervose o singole cellule, di somministrare con microcannule sostanze chimiche in regioni del cervello e di estrarne metaboliti (*push-pull cannula*; L. Stein, R. Wise, 1971), sino alle più recenti tecniche «non invasive» che permettono di esplorare nell'organismo vivente l'anatomia del cervello attraverso l'associazione di tecniche radiologiche e informatiche (tomografia assiale computerizzata [T.A.C.]; C. Hounsfield e A. Cormack, 1973; v. TOMOGRAFIA ASSIALE COMPUTERIZZATA, XIV, 2469) e di visualizzare delle aree cerebrali e il loro metabolismo *in vivo* con la tecnica della tomografia a emissione di positroni (o PET; v. XIV, 2401) basata sull'uso di sostanze marcate con radioisotopi (M. E. Phelps, L. Sokoloff) o con la tecnica basata sulla visualizzazione a risonanza magnetica nucleare (RMN; v. TOMOGRAFIA A RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE, XIV, 2417) (P. C. Lautbur, 1973).

L'insieme di queste tecniche ha consentito di raggiungere risultati di crescente importanza nell'ambito delle n., che devono i loro successi a questo approccio ibrido, basato su una stretta interazione tra biologia, fisica e chimica. Alla conoscenza della funzione neuronale hanno dato un forte contributo anche la farmacologia del sistema nervoso (neuro- e psicofarmacologia) e la biologia molecolare. Non esiste oggi un laboratorio che svolga ricerche di neurobiologia o di biologia del comportamento in cui non vengano utilizzate sostanze di sintesi o naturali che modifichino il metabolismo dei mediatori nervosi e ne imitino o blocchino gli effetti. L'uso di queste sostanze permette di modificare globalmente il funzionamento cerebrale, ad es., innalzando o deprimendo i livelli di vigilanza, oppure, attraverso microiniezioni in specifici nuclei del cervello, di modificarne l'attività, simulando gli effetti di stimolazioni o di lesioni transitorie. L'approccio psicofarmacologico ha soprattutto consentito di caratterizzare meglio la fisiologia dei recettori nervosi su cui agiscono le sostanze naturali — i mediatori e modulatori nervosi — che vengono prodotte dal nostro cervello, soprattutto a livello del sistema limbico, e che modulano le emozioni.

**L'apporto della biologia molecolare**

Per quanto riguarda l'approccio alla funzione nervosa basato sulla biologia molecolare è stato anzitutto possibile stabilire la struttura di alcuni recettori nervosi, come ha fatto J. P. Changeux (1981) che ha descritto la struttura del complesso recettore-proteina canale del neurotrasmettitore acetilcolina. Questi recettori sono stati anche «trapiantati» in grosse cellule non nervose, come l'uovo di un anfibio, lo *Xenopus*. R. Miledi (1971) ha iniettato nell'uovo di *Xenopus* RNA messaggero proveniente dal cervello; l'RNA, che codifica le informazioni necessarie a stabilire la struttura dei recettori, induce l'uovo in via di sviluppo a «fabbricare» sulla sua membrana i recettori dei neurotrasmettitori nervosi che sono così facilmente accessibili per studiarne la funzione.

Altri ricercatori cercano invece di comprendere come, a partire da diverse informazioni genetiche, si formino diverse proteine cerebrali. Per es., F. Bloom (1987) ha stabilito che il cervello dei mammiferi deve la sua complessità

a circa 30.000 RNA messaggeri specifici; lo stesso studioso, inoltre, ha identificato la sequenza di aminoacidi di numerose proteine, ma le ha anche localizzate nei neuroni o nella glia. Accanto alle proteine che svolgono un ruolo fisiologico, ve ne sono altre che possono svolgerne uno patologico, per es. le molecole anomale di mielina, o quelle di amiloide che segnano la degenerazione neuronale in malattie come il morbo di Alzheimer. Si tratta di studi importanti anche per le loro possibili conseguenze applicative.

I neurobiologi utilizzano altre strategie della biologia molecolare nel tentativo di localizzare con «sonde» il frammento di DNA — cioè il gene — che è responsabile per l'espressione di un dato peptide o proteina, cioè per degli aspetti normali o patologici della funzione nervosa. Sono stati così «posizionati» sui cromosomi (Gusella *et al.*, 1983) diversi geni, come quello responsabile della corea di Huntington, o quello che codifica l'enzima monoaminossidasi, che demolisce neurotrasmettitori come la dopamina o la noradrenalina.

Oltre ad avere aspetti di tipo conoscitivo, la neurobiologia molecolare, attraverso l'ingegneria genetica, apre la strada a interventi di tipo applicativo che comportano la «riparazione» di difetti genetici, per es. handicap di tipo neurologico. Ma si potrebbe anche indurre il sistema nervoso a fabbricare sostanze di cui è carente o che sono necessarie in seguito a fatti patologici, come una trombosi cerebrale, o una lesione nervosa centrale o periferica. Ancora, si potrebbe modificare l'informazione genetica delle cellule del sangue, inducendole a fabbricare sostanze che possano agire sul cervello.

**Bibliografia**


Carlson N. R., *Physiology of Behavior*, 1981, Allyn and Bacon, New York (in it., *Fisiologia del comportamento*, 1983, Zanichelli, Bologna).

Changeux J. P., *L'homme neuronal*, 1983, Librairie Arthème Fayard, Paris (in it., *L'uomo neuronale*, 1983, Feltrinelli, Milano).

Kandel E. R., Schwartz J. H., *Principles of Neural Science*, 1985, Elsevier, New York (in it., *Principi di neuroscienze*, 1987, Editrice Ambrosiana, Milano).

Oliverio A., *Biologia e comportamento*, 1982, Zanichelli, Bologna.

Schmidt R. F., *Fundamentals of Neurophysiology*, 1978, Springer-Verlag, New York (in it., *Fondamenti di neurofisiologia*, 1985, Zanichelli, Bologna).


ALBERTO OLIVERIO

## NEUROTOSSINE

F. *neurotoxines*. - I. *neurotoxins*. - T. *Neurotoxinen*. - S. *neurotoxinas*.

SOMMARIO



### INTRODUZIONE

Con il termine *neurotossine* vengono definiti composti in grado di provocare alterazioni di lunga durata spesso permanenti dell'attività di determinati neuroni, ed in alcuni casi la loro distruzione. Fino a qualche tempo fa era noto solamente l'effetto tossico sulle cellule nervose di composti esogeni, quali sostanze chimiche di sintesi o di origine animale e vegetale (esotossine). Recentemente è stata riconosciuta l'attività neurotossica di alcuni composti endogeni ad elevate concentrazioni (endotossine). La somiglianza fra lesioni da endotossine, ed in particolare da eccitotossine, e neuropatologia umana ha portato a concludere che il cervello produce composti che in condizioni fisiologiche partecipano alla sua attività funzionale, mentre in determinate condizioni aumentano a dismisura la loro concentrazione e possono provocare malattie degenerative.

L'effetto neurotossico di un composto viene definito sulla base della sua capacità di provocare sia danni anatomici sia riduzioni delle concentrazioni cerebrali dei neurotrasmettitori (v.*) e loro metaboliti, della loro captazione a livello della terminazione presinaptica (v. SINAPSI), oppure dell'attività degli enzimi preposti alla loro sintesi.

Le n. vengono ampiamente utilizzate dai ricercatori come mezzo per analizzare i meccanismi molecolari che controllano l'attività della membrana neuronale e che sono alla base dei processi neurofisiologici e neuropatologici (in particolare, degenerazione, rigenerazione e plasticità neuronale). Di notevole interesse in campo medico-biologico è l'utilizzo sperimentale di tossine specifiche per determinati neurotrasmettitori, al fine di evidenziare le conseguenze della compromissione dei diversi sistemi neurorecettoriali e di valutarne il possibile significato nei confronti dell'etiopatogenesi di alcune malattie degenerative del S.N.C.

### NEUROTOSSINE ATTIVE SUI CANALI IONICI

Numerose n. di origine animale modificano l'attività dei canali per gli ioni $Na^+$ e $K^+$. Nei casi in cui è stato possibile purificare e caratterizzare alcune tossine, è stata osservata un'analogia nella loro struttura chimica (peso molecolare e sequenza aminoacidica) fra quelle dotate di azione selettiva su ciascuno dei due tipi di canali ionici. Un gruppo di tossine presenti nei veleni dei serpenti (*beta-bungarotossina*, *crotossina*, *notessina* e *taipossina*) è dotato anche di attività enzimatica simile alla fosfolipasi A2.

Innumerevoli sono le tossine in grado di bloccare i canali del $Na^+$. Tra di esse possono essere citati i veleni di *Leiurus quinquestriatus*, di *Androctonus australis* e della famiglia delle *Buthinae*, quello del *Centruroides suffusus suffusus*, la tossina II del *Tityus serrulatus*, la *tetrodotossina*; alcune tossine presenti nel veleno di *Centruroides sculpturatus*, *Tityus serrulatus* e la tossina II-10 del *C. noxious*.

Alcune tossine bloccano i vari tipi di canali del $K^+$ attivati dai $Ca^{2+}$: quelli con alta sensibilità al $Ca^{2+}$ endocellulare, bassa conduttanza ed assenza di voltaggio-dipendenza vengono inattivati dalla *apamina* mentre i canali con alta conduttanza e voltaggio-dipendenza, presenti nell'ippocampo e nella muscolatura scheletrica sono bloccati da *charibdotossina*, *noxiustossina*, *dendrotossina* e *beta-bungarotossina*. Quest'ultimo gruppo di tossine facilita anche la liberazione dei neurotrasmettitori. Altre tossine attive sui canali del $K^+$ voltaggio-dipendenti sono state estratte dal mollusco marino *Conus striatus*, dall'anemone di mare *Actinia equina* e dalla vipera del Gabon *Bitis gabonica*.

L'*alfa-latrotossina*, presente nel veleno del ragno «vedova nera», facilita la liberazione dei neurotrasmettitori con meccanismo indipendente (nel caso dell'acetilcolina e del GABA) o scarsamente dipendente (nel caso delle ca-





Digitized by Google

tecolamine e della metenkefalina) dagli ioni $Ca^{2+}$, senza essere dotata di alcuna attività enzimatica. Questa tossina è efficace solo sulle sinapsi dei vertebrati, e non influenza l'attività secretoria delle cellule non neuronali. Il morso del ragno provoca un effetto bifasico con attività di stimolazione seguita da paralisi e degenerazione del sistema nervoso centrale e periferico.

## ECCITOTOSSINE

### Acido glutammico e analoghi endogeni

La prima osservazione sulla neurotossicità del glutammato di Na risale al 1957, allorché Lucas e Newhouse nel corso di studi volti a identificare una terapia della distrofia retinica, scoprirono che nel ratto l'iniezione sistemica di glutammato era seguita dalla distruzione dello strato neuronale interno della retina. La successiva conferma della potenziale neurotossicità del glutammato negli animali giovani, ha portato a limitarne l'impiego come additivo alimentare specie nei prodotti dietetici per l'infanzia. Il possibile coinvolgimento di questo aminoacido in alcune patologie del sistema nervoso con marcata componente degenerativa è anche sostenuto dalla osservazione degli effetti neurotossici di composti dotati di proprietà eccitatorie simili a quelle del glutammato. Composti endogeni con potenzialità neurotossica sono: *N-acetil-aspartil-glutammato*, *ac. L-aspartico*, *ac. L-cisteico*, *L-cisteina sulfonato*, *ac. L-glutammico*, *ac. L-omocisteico*, *ac. L-piroglutammico*, *ac. chinolinico*, *tetraidrofolati* e loro congeneri. A questi vanno aggiunti alcuni aminoacidi eterociclici isolati dal regno vegetale (*ac. kainico* ed *ac. ibotenico*) ed altri di sintesi (*ac. N-metil-D-aspartico* o NMDA).

In condizioni fisiologiche l'ac. glutammico e gli altri aminoacidi eccitatori endogeni sono presenti nel citoplasma dei neuroni in concentrazioni millimolari. La loro attività di neurotrasmettitori si esercita attraverso l'attivazione di recettori specifici postsinaptici che vengono oggi suddivisi in 4 diversi tipi, in base alla loro reattività ai vari agonisti di questo gruppo.

### Meccanismo d'azione delle eccitotossine

Questi aminoacidi posseggono una bassa tossicità a causa di un potente meccanismo di captazione presinaptica che ne mantiene bassa la concentrazione a livello extracellulare. Nel caso di una eccessiva stimolazione del recettore, causata da agenti esogeni, da un'abnorme liberazione presinaptica degli aminoacidi eccitatori o dalla distruzione del neurone, inizia una cascata di eventi che, modificando in senso neurotossico l'ambiente extracellulare, possono provocare la morte neuronale. Negli anni più recenti l'utilizzo di agonisti ed antagonisti sempre più selettivi ha portato a concentrare gli studi sul recettore per l'NMDA. Nel corso di determinati processi patologici si possono determinare alterazioni della funzionalità recettoriale che rendono il sistema ipo- o iperfunzionante. Fino ad ora, il maggior interesse è stato rivolto ad un'aumentata funzione potenzialmente responsabile di danni neuronali.

Alcuni studi sperimentali indicano che la gravità del danno indotto da composti analoghi al glutammato varia, durante lo sviluppo postnatale, probabilmente in rapporto alla diversa ontogenesi delle varie popolazioni recettoriali per il glutammato. Ad es., rispetto agli animali adulti, il cervello del neonato è relativamente meno sensibile agli effetti neurotossici dell'ac. kainico e chinolinico, ma più sensibile agli effetti neurotossici dell'ac. quisqualico, ibotenico e dell'NMDA. Inoltre, è stato dimostrato che, a seguito di iniezione intracerebrale, la loro azione neurotossica può essere circoscritta nella sede di iniezione (ac. chinolinico ed ibotenico) o in aree che ricevono afferenze dall'area di iniezione (ac. kainico).

I possibili meccanismi coinvolti nella morte neuronale da eccitotossine sono: 1) un aumentato influsso di $Ca^{2+}$ attraverso canali specifici controllati dal recettore per l'NMDA a seguito di abnorme stimolazione di quest'ultimo; 2) un aumentato ingresso di $Na^{+}$ nel neurone con conseguente rigonfiamento cellulare e successivo ingresso di $Ca^{2+}$; 3) l'attivazione di recettori per l'ac. glutammico non collegati con canali ionici (recettori metabolotropi) che provocherebbe un'alterazione del *turnover* dei fosfatidilinositoli e conseguente mobilizzazione di $Ca^{2+}$ dal reticolo endoplasmico; 4) una lesione del terminale presinaptico con diffusione di ac. glutammico nello spazio intersinaptico e maggiore disponibilità dell'aminoacido a livello del recettore; 5) un aumento eccessivo dei fenomeni ossidativi a livello locale con produzione di superossidi e radicali ossidrilici (ipotesi suffragata dalla osservazione della ridotta tossicità degli aminoacidi eccitatori dopo somministrazione di composti che riducono i livelli di superossidi e radicali liberi).

### Possibili patologie da eccitotossine

La distribuzione ubiquitaria degli aminoacidi eccitatori come neurotrasmettitori del S.N.C. e il loro coinvolgimento in numerose funzioni (attività motoria, sensoriale, funzione associativa/cognitiva, memoria, etc.), li pone all'attenzione come possibili candidati nella etiopatogenesi di un'ampia gamma di patologie neurologiche e psichiatriche.

Nell'ischemia cerebrale si è osservata l'inattivazione del meccanismo di ricaptazione del glutammato, con accumulo di quest'ultimo nel compartimento extracellulare. Un simile meccanismo d'azione è stato ipotizzato anche in caso di danno cerebrale da ipoglicemia. I fenomeni convulsivi da farmaci o da stimolazione elettrica provocano alterazioni dei neuroni glutammergici; in alcuni modelli sperimentali di male epilettico sono stati osservati danni neuronali simili a quelli indotti dagli aminoacidi eccitatori. Questo è d'altronde confermato dall'effetto protettivo ottenuto in queste patologie a seguito di somministrazione di antagonisti competitivi del recettore NMDA. Tuttavia, non è stato ancora chiarito se l'effetto protettivo sia riferibile all'azione anticonvulsivante di questi antagonisti o al blocco del recettore specifico.

L'iniezione intrastriatale di ac. ibotenico negli animali di laboratorio provoca lesioni simili a quelle rilevate nei pazienti sofferenti della malattia di Huntington, mentre la iniezione di ac. kainico nell'ippocampo provoca lesioni simili a quelle rilevate in soggetti sofferenti di epilessia temporale. Di un certo interesse è stata l'osservazione che l'ac. chinolinico e le eccitotossine attive sul recettore NMDA presentano una maggiore neurotossicità nei confronti del nucleo caudato rispetto ad altre regioni del S.N.C.

Un'alterazione dell'interazione fra fibre glutamminergiche (corteccia-nucleo subtalamico-corpo striato) e dopaminergiche a livello dello striato (nucleo caudato-*putamen*) sembra rivestire un ruolo importante nella patogenesi del morbo di Parkinson. Infatti, un aumento degli aminoacidi eccitatori (ac. L-aspartico ed ac. L-glutammico) è stato osservato nel liquido cefalo-rachidiano di soggetti sofferenti di morbo di Parkinson.

Studi di Spencer hanno ipotizzato che una particolare forma clinica di sclerosi laterale amiotrofica (associata a parkinsonismo e demenza tipo Alzheimer), osservata negli abitanti di Guam, sia riferibile all'azione neurotossica dell'aminoacido eccitatorio *beta-N-metilamino-L-alanina*. Quest'ultimo è presente nei semi di *Cycas circinalis*, utilizzati a scopo alimentare e nella medicina tradizionale dagli abi-





Digitized by Google

tanti di quest'isola. La tossicità di questo aminoacido negli animali di laboratorio è bloccata dagli antagonisti del NMDA.

## NEUROTOSSINE ATTIVE SUI NEURONI MONO-AMINERGICI

Fra le esotossine attive sulla trasmissione colinergica, vanno ricordati alcuni agenti alchilanti quali la *ciclocolina azeridinium*, l'*eticolina azeridinium* (AF64A), la *tetrabis(2-cloroetil)-1,6-esanodiamina* e l'*emicolinio-3-bromo*. I primi due sono quelli maggiormente utilizzati come potenziali mezzi per lo sviluppo di modelli animali volti allo studio del morbo di Alzheimer, una patologia in cui si registra una ridotta funzionalità della trasmissione colinergica.

Per quanto riguarda le tossine attive sui sistemi catecolaminergici, si rimanda al paragrafo concernente la metanfetamina (v. sotto). Viene tuttavia qui trattato l'MPTP.

### MPTP

Il composto *1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidrorpiridina* (MPTP) ed il suo metabolita attivo, lo ione N-metil-4-fenilpiridina ($MPP^+$), provocano nell'uomo e nella scimmia una sindrome extrapiramidale permanente associata ad alterazioni istologiche (distruzione selettiva dei neuroni nigrostriatali) e biochimiche (caduta del contenuto striatale di dopamina) simili a quelle rilevate in soggetti sofferenti di morbo di Parkinson. La possibile relazione fra intossicazione da MPTP e morbo di Parkinson è stata ipotizzata da Langston nel 1985 (v. PARKINSON, MORBO DI*). Per la sua lipofilia l'MPTP attraversa la barriera ematoencefalica. Nel cervello viene trasformato in $MPP^+$ a livello delle cellule endoteliali e degli astrociti, mediante un'ossidazione catalizzata dall'enzima monoaminossidasi tipo B. L'$MPP^+$ viene quindi liberato a livello extracellulare e captato dai neuroni striatali dopaminergici, con conseguente deplezione di dopamina. In base alla forte carica cationica, lo ione $MPP^+$ inibisce, inoltre, la respirazione mitocondriale con conseguente morte neuronale. L'effetto neurotossico quindi è riferibile soprattutto al $MPP^+$ che ha un'emivita di 10 giorni nella scimmia *rhesus* e di 2 h nei roditori. Questa differenza specie-specifica nella eliminazione di $MPP^+$ spiega la scarsa tossicità del MPTP dopo somministrazione sistemica nei roditori.

**Bibliografia**

Baumgarten H. G. *et al.*, *J. Physiol. (Paris)*, 1981, **77**, 309.
Catterall W. A., *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 1980, **20**, 15-43.
Hanin I., *Life Sci.*, 1984, **35**, 3-51.
Jesberger J. A., Richarson J. S., *Int. J. Neurosci.*, 1991, **57**, 1-17.
Langston J. W. *et al.*, *Science*, 1984, **225**, 1480.
Meltzer N. Y., *Psychopharmacology: The third generation of progress*, 1987, pp. 333-357.
Olney J. W., *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 1990, **30**, 47-71.
Spencer P. S. *et al.*, *Science*, 1987, **237**, 517-522.
Strong P. N., *Pharmacol. Ther.*, 1990, **46**, 137-162.

MARINO MASSOTTI

## NEUROTOSSICITÀ DA METANFETAMINA E ANALOGHI STRUTTURALI

### Premessa

La metilanfetamina o metanfetamina [MA] e altri farmaci correlati, tra cui l'anfetamina [ANF], la metilendiossimetilanfetamina [MDMA] e la fenfluramina, vengono utilizzati a fine voluttuario e/o clinico. Studi neurochimici e istologici condotti su animali sembrano dimostrare che queste sostanze svolgono un effetto tossico sui neuroni monoaminergici. Da un'analisi del rapporto tra la dose tossica e quella efficace dei farmaci MA-simili non si esclude la possibilità che alcuni individui che facciano uso di tali sostanze possano subire dei danni neuronali.

Il meccanismo con cui i farmaci MA-simili svolgono i loro effetti tossici non è stato ancora individuato, ma sembra che esso implichi la formazione di neurotossine a partire da trasmettitori endogeni rilasciati dalle terminazioni nervose in risposta all'esposizione al farmaco. Comprendere appieno questo meccanismo potrebbe contribuire a definire quali sostanze appartenenti a questa categoria potrebbero avere un'azione neurotossica, e aiutare a chiarire i meccanismi di morte cellulare che intervengono nell'invecchiamento e nelle malattie degenerative del S.N.C. Le informazioni relative alle conseguenze funzionali della neurotossicità prodotta dai farmaci MA-simili sono poche, ma si rivelano fondamentali per una formulazione ponderata di una regolamentazione dell'uso di questi farmaci.

Della MA e di altre sostanze strutturalmente e/o farmacologicamente correlate ad essa, si è fatto ampiamente uso durante gli ultimi 40 anni. Nella pratica clinica la MA e i farmaci correlati sono stati utilizzati nel trattameoto dell'obesità, della narcolessia, nei disordini dei deficit dell'attenzione e nell'autismo. Alcuni farmaci di questa categoria, in particolare la MA e l'ANF, sono dei potenti stimolanti psicomotori. Grazie alle loro proprietà euforizzanti e di inibizione della fatica, esiste una forte tendenza all'abuso di tali stimolanti psicomotori, come dimostrano le epidemie di abuso di MA scoppiate tra il 1950 e il 1970 in Giappone, Gran Bretagna, Svezia e U.S.A. (Seiden e Ricaurte, 1987). In seguito al consumo cronico di ANF e MA si sviluppano sia dipendenza fisica sia tolleranza o sensibilizzazione ai loro effetti. Il consumo cronico di questi stimolanti psicomotori può provocare una sindrome che risulta sovrapponibile ad una psicosi acuta paranoide, la quale scompare nel momento in cui il consumo della sostanza viene interrotto (Ellinwood, 1968).

Gli intensi effetti comportamentali e fisiologici delle sostanze MA-simili hanno stimolato numerose ricerche sugli effetti che la somministrazione sia acuta che cronica di questi farmaci può svolgere sul S.N.C. È stato dimostrato che la somministrazione acuta di ANF, che è il farmaco prototipo di questa categoria, influenza i sistemi neurotrasmettitoriali dopaminergici, noradrenergici e serotonioergici. Si ritiene che questi effetti svolgano un ruolo importante anche nella farmacologia e nella tossicologia dei farmaci MA-simili; tra gli effetti prodotti sono compresi infatti il rilascio di dopamina (DA) e di serotonina (5-idrossitriptamina [5-HT]) dal *pool* citoplasmatico, il blocco del riassorbimento di DA e noradrenalina [norepinefrina: NE] da parte della terminazione nervosa e l'inibizione della monoaminossidasi. La somministrazione cronica di MA e ANF sembra produca deficit permanenti nei sistemi dopaminergici e serotoninergici (Ricaurte *et al.*, 1980; Wagner *et al.*, 1980; Ellison *et al.*, 1978).

### Neurotossicità indotta dalla metilanfetamina [MA]

È ormai ampiamente dimostrato che la MA provoca la degenerazione delle terminazioni nervose dopaminergiche e serotoninergiche. In seguito alla somministrazione di dosi massicce o ripetute di MA si osserva un calo duraturo di DA e di 5-HT e un accumulo dei loro enzimi di sintesi in regioni bersaglio come i corpi striati, il tubercolo olfattorio, la corteccia frontale, il nucleo *accumbens*, l'amigdala, la corteccia cerebrale e l'ippocampo (Ricaurte *et al.*, 1980; 1984; Hotchkiss *et al.*, 1979). Inoltre, in queste stesse aree terminali si assiste ad una riduzione della velocità massima ($V_{max}$), ma non della costante di affinità ($K_m$) per il riassorbimento di DA e 5-HT, indice questo di una perdita di terminazioni nervose (Wagner *et al.*, 1980). Infine tecniche di istofluorescenza e di impregnazione con sali d'argento hanno fornito dati istologici consistenti con l'ipotesi di degenerazione delle terminazioni nervose in seguito alla somministrazione di MA (Ricaurte *et al.*, 1984; Ellison *et al.*, 1978; Commins e Seiden, 1986). A dispetto delle numerose osservazioni che dimostrano un effetto degenerativo della MA sulle terminazioni nervose, non esistono dati sufficienti che provino l'esistenza di danni a carico dei corpi cellulari



Digitized by Google

**TAB. I. EFFETTI A LUNGO TERMINE DELLA METILANFETAMINA (MA) E DI FARMACI CORRELATI SUI LIVELLI CEREBRALI DI MONOAMINE**

| | DA | NE | 5-HT |
|---|---|---|---|
| Anfetamina | diminuzione | nessuna modifica | lieve diminuzione |
| Metilanfetamina (MA) | diminuzione | » | diminuzione |
| Fenfluramina | nessuna modifica | » | » |
| MDA (metilendiossianfetamina) | » | » | » |
| MDMA (metilendiossimetilanfetamina) | » | » | » |
| PCA (paracloroanfetamina) | » | » | » |
| Cocaina | » | » | nessuna modifica |
| Metilfenidato | » | » | » |

dopaminergici o serotoninergici (Seiden e Ricaurte, 1987). Eccettuando forse solo i neuroni contenuti nella lamina III e IV della corteccia somatosensoria di ratto, di cui non si conoscono i neurotrasmettitori (Commins e Seiden, 1986), gli effetti neurotossici della MA sembrano limitati ai neuroni DA e 5-HT, dal momento che la somministrazione di MA non porta a modificazioni permanenti nei livelli di colina-aceiltransferasi, glutammato-decarbossilasi o NE (Hotchkiss *et al.*, 1979; Wagner *et al.*, 1980).

**Neurotossicità indotta da farmaci MA-simili**

Alcuni farmaci correlati con la MA producono effetti neurotossici simili sui neuroni contenenti 5-HT e/o DA (tab. I).

L'ANF svolge un'azione neurotossica sia sul sistema dopaminergico che serotoninergico, sebbene essa abbia effetti più evidenti sulla DA (Seiden e Ricaurte, 1987). Altre quattro sostanze, elencate nella tab. I, la paracloroanfetamina (PCA), la fenfluramina, la metilendiossianfetamina (MDA) e la MDMA possiedono un'azione tossica nei confronti del sistema serotoninergico, ma il loro effetto sulla DA è minimo, se non inesistente (Ricaurte *et al.*, 1985; Schmidt *et al.*, 1986a; Schmidt *et al.*, 1986b; Commins *et al.*, 1987). La PCA viene utilizzata solo a scopo di ricerca. La fenfluramina è utilizzata come anoressizzante (v. ANORESSICI FARMACI*) nel controllo del peso corporeo e nel trattamento dell'autismo, ma non sembra avere la stessa potenzialità di farmaco d'abuso della MA e dell'ANF (Schuster *et al.*, 1986). MDA e MDMA vengono comunemente assunte a scopo voluttuario (Peroutka, 1987), mentre la MDMA è stata utilizzata come coadiuvante nella psicoterapia (Shulgin, 1986). Entrambe posseggono proprietà di stimolazione psicomotoria e si ritiene che inducano una evidente predisposizione all'abuso. Come la MA, l'ANF, la fenfluramina e la PCA, anche la MDA e la MDMA inducono un aumento della concentrazione di 5-HT a livello sinaptico, bloccando il riassorbimento di 5-HT e/o aumentandone il rilascio (Schuster *et al.*, 1986). Tra gli effetti neurotossici prodotti da PCA, fenfluramina, MDA e MDMA si osservano un calo permanente di 5-HT, una riduzione nel numero di siti di riassorbimento di 5-HT e tracce di danni a carico dei neuroni 5-HT (Ricaurte *et al.*, 1985; Schuster *et al.*, 1986; O'Hearn *et al.*, 1988). In alcune aree cerebrali il processo di riduzione dei livelli di 5-HT tende ad attenuarsi con il tempo, facendo ipotizzare che si instauri un processo di rigenerazione delle terminazioni serotoninergiche (Schuster *et al.*, 1986; Commins *et al.*, 1987).

La cocaina e il metilfenidato inducono effetti farmacologici abbastanza simili a quelli prodotti da MA e ANF. Il metilfenidato mostra di avere effetti tossici nei confronti dei neuroni DA o 5-HT, mentre la neurotossicità della cocaina è controversa (Kleven *et al.*, 1988). Il motivo per cui questi farmaci possiedono un ridotto potenziale neurotossico rispetto alla MA e all'ANF potrebbe essere dovuto a piccole differenze negli effetti farmacologici prodotti. Il metilfenidato, per es., induce un rilascio di DA dal *pool* vescicolare piuttosto che dal *pool* citoplasmatico. Il rilascio da parte del *pool* citoplasmatico sembra invece costituire un passaggio essenziale del meccanismo di neurotossicità indotta dalla MA.

**Potenziale neurotossico nell'uomo**

L'analisi del potenziale neurotossico dei farmaci MA-simili nell'uomo costituisce un campo di ricerca di grande interesse, sebbene non abbia ancora fornito dei risultati concreti. La MA si è rivelata tossica in un'ampia varietà di specie come ratti, topi, gatti, cavie e scimmie *rhesus* (Seiden e Ricaurte, 1987). L'ampio spettro d'azione della MA lascia supporre che i farmaci MA-simili possano svolgere un'azione neurotossica anche nell'uomo.

Per sostenere un paragone tra la neurotossicità manifestata negli animali e quella prodotta nell'uomo, è necessario confrontare le dosi utilizzate negli studi sugli animali con le dosi assunte dall'uomo. La dose neurotossica della MA è altamente correlata alla dose farmacologicamente attiva. Nei ratti, per es., una singola dose di MA di 2 mg/kg per via intraperitoneale (i.p.) può incrementare l'attività locomotoria oppure sopprimere il consumo di cibo. Sono invece necessari 50-100 mg/kg (i.p.) di MA per produrre effetti neurotossici nei ratti; il rapporto tra la dose tossica e la dose efficace è tra 12,5/1 e 25/1. Perciò se la MA viene assunta in dosi normalmente attive sul comportamento, l'effetto neurotossico è prodotto in misura ridottissima o addirittura nulla. D'altra parte individui che abusino di MA molto spesso assumono tale farmaco in dosi notevolmente superiori a quelle normalmente efficaci sul comportamento e a queste dosi si può manifestare l'effetto neurotossico.

Il rapporto tra la dose tossica e la dose efficace sul comportamento è addirittura minore se si considerano la MDA e la MDMA. 5 mg/kg (i.p.) di MDA o di MDMA bloccano il consumo di cibo nei ratti, mentre 10 mg/kg (i.p.) di queste stesse sostanze producono riduzioni permanenti di 5-HT in alcune regioni cerebrali (Ricaurte *et al.*, 1985; Schmidt *et al.*, 1986b). La dose tossica di MDA e MDMA è quindi solo 2 volte maggiore della dose efficace. Inoltre i primati non antropomorfi sono apparentemente meno sensibili dei ratti agli effetti neurotossici della MDMA (Ricaurte *et al.*, 1988) ed è quindi probabile che nei primati (e nell'uomo) questo rapporto sia addirittura più basso.





Digitized by Google

**Conseguenze comportamentali e funzionali della neurotossicità da farmaci MA-simili**

La DA svolge un ruolo fondamentale nella regolazione dei comportamenti motori ed emozionali, nell'alimentazione e nei meccanismi centrali di ricompensa. Allo stesso modo la 5-HT ha un ruolo importante nella regolazione dell'attività motoria e del comportamento alimentare, ma anche nella percezione degli stimoli dolorosi, nell'attività sessuale, nella regolazione del sonno e, nell'uomo, nella modulazione dell'umore. Nonostante la DA e la 5-HT siano implicate in questi comportamenti e funzioni del S.N.C., non sono mai state osservate evidenti conseguenze comportamentali della neurotossicità indotta da MA. È anche vero però che animali precedentemente trattati con MA, quando vengono testati in diversi paradigmi comportamentali, mostrano una alterata sensibilità ai farmaci sul sistema dopaminergico (Seiden e Ricaurte, 1987).

**Meccanismo della neurotossicità da farmaci MA-simili**

Il meccanismo con cui i farmaci MA-simili svolgono un effetto tossico sui neuroni DA e 5-HT non è ancora noto. Esistono però evidenze del fatto che questi farmaci provocano il rilascio dei neurotrasmettitori non dal *pool* vescicolare, ma dal *pool* citoplasmatico. È possibile che il trasmettitore rilasciato dal *pool* citoplasmatico sia più soggetto all'ossidazione di quanto non lo sia quello rilasciato dal *pool* vescicolare, dal momento che i granuli di deposito contengono alte concentrazioni di ac. ascorbico. Esperimenti condotti *in vivo* e *in vitro* sembrano dimostrare che la DA può essere ossidata a livello dell'anello fenolico senza l'intervento di enzimi, trasformandosi in 6-idrossidopamina (6-HDA). Analogamente è stato anche proposto che la 5-HT possa autossidarsi a 5,6-DHT (Commins *et al.*, 1987). A parte il fatto che la 6-HDA e la 5,6-DHT sono esse stesse sostanze neurotossiche, l'autossidazione della DA si accompagnerebbe alla produzione di sostanze tossiche, come i radicali idrossilici. La 6-HDA viene selettivamente riassorbita dalle terminazioni nervose dopaminergiche e noradrenergiche. Si crede che le terminazioni vengano distrutte in seguito alla formazione di radicali liberi e di chinoni altamente reattivi formatisi in seguito all'autossidazione della 6-HDA. La 5,6-DHT molto probabilmente svolge i suoi effetti neurotossici sulle terminazioni serotoninergiche mediante un meccanismo del tutto analogo.

Esistono diversi studi che confermano l'esistenza di tale meccanismo neurotossico dei farmaci MA-simili. Innanzi tutto la 6-HDA è stata rinvenuta nel cervello di ratto subito dopo la somministrazione di una dose neurotossica di MA e la 5,6-DHT è stata individuata in seguito alla somministrazione sia di MA che di PCA (Commins *et al.*, 1987). In secondo luogo gli effetti neurotossici della MA sui neuroni dopaminergici e serotoninergici vengono bloccati se si somministra precedentemente l'alfa-metil-*p*-tirosina (AMT), un inibitore della tirosina-idrossilasi, l'enzima regolatore della sintesi di DA. La riduzione del livello di DA provocata dalla somministrazione di AMT porterebbe ad una diminuzione dei livelli di DA disponibile per il rilascio e per l'autossidazione a 6-HDA. Meno facile è spiegare la capacità dell'AMT di proteggere il sistema serotoninergico dalla tossicità indotta dalla MA. Infine si è osservato che gli inibitori dell'*uptake* sono in grado di bloccare gli effetti neurotossici di MA, PCA e MDMA, anche se somministrati a distanza di ore dall'assunzione delle n. (Schmidt *et al.*, 1986b). Tali farmaci potrebbero bloccare il ripompaggio della 6-HDA e della 5,6-DHT formatesi a livello sinaptico a partire dalla DA e dalla 5-HT rilasciate, bloccando così gli effetti neurotossici della MA e dei farmaci correlati.

La formazione di tossine da parte di neurotrasmettitori endogeni, come conseguenza della somministrazione di un farmaco, costituisce un fenomeno di notevole interesse, che fa supporre che processi simili possano verificarsi anche in assenza del farmaco; si potrebbe quindi ipotizzare l'esistenza di un meccanismo generale che porta alla morte cellulare in conseguenza di una malattia e/o dell'invecchiamento.

**Prospettive future**

Lo sviluppo di questo campo di ricerca dovrà seguire quattro direzioni principali.

1) È necessario analizzare l'eventuale neurotossicità dei sostituti della fenetilamina e dei composti ad essa farmacologicamente correlati; essi possiedono infatti un'analogia con sostanze di cui è stata già dimostrata la neurotossicità. Alcuni di questi composti vengono utilizzati nella pratica clinica, mentre altri vengono assunti illegalmente.

2) Bisogna esaminare le conseguenze fisiologiche e/o comportamentali della neurotossicità indotta dai farmaci anche sperimentalmente, nonché le implicazioni degli effetti di questa neurotossicità nell'uomo.

3) È molto importante comprendere fino in fondo i meccanismi con cui questi farmaci provocano neurotossicità, perché questo permetterebbe di prevedere eventuali effetti neurotossici di farmaci nuovi e di chiarire i principi generali che governano la morte neuronale nell'invecchiamento e nella malattia.

4) Si rende necessario stabilire una politica di regolamentazione dell'uso dei farmaci neurotossici o potenzialmente tali. Questa politica deve tenere conto della relativa efficacia clinica dei farmaci e della gravità delle condizioni di salute dell'individuo, in relazione ai potenziali effetti neurotossici che i farmaci stessi possono svolgere. Stabilire delle linee di principio che regolino l'uso di questi composti tossici è un compito difficile, che deve essere risolto in breve tempo; un punto attualmente dibattuto riguarda la regolamentazione dell'uso della MDMA (Barnes, 1988). Le informazioni che possono derivare dall'analisi dei tre punti precedentemente descritti sono fondamentali per una formulazione razionale di tali linee di condotta.

**Bibliografia**

Barnes D. M., *Science*, 1988, **239**, 864.
Commins D. L., Seiden L. S., *Brain Res.*, 1986, **365**, 15-20.
Commins D. L., Axt K. J., Vosmer G., Seiden L. S., *Brain Res.*, 1987, **419**, 253-261.
Commins D. L., Vosmer G., Virus R. M., Woolverton W. L., Schuster C. R., Seiden L. S., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1987, **241**, 338-345.
Ellinwood E. H., *Int. J. Neuropsych.*, 1968, **4**, 45-67.
Ellison G., Eison M. S., Huberman H. S., Daniel F., *Science*, 1978, **201**, 276.
Harvey J. A., McMaster S. E., Fuller R. W., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1977, **202**, 581-589.
Hotchkiss A. J., Morgan M. E., Gibb J. W., *Life Sci.*, 1979, **25**, 1373-1378.
Inghe G., in Sjoqvist F., Tottie M. eds., 1969. *Abuse of Central Stimulants*, Almqvist and Wiksell, Stockholm, pp. 187-219.
Kleven M. S., Woolverton W. L., Seiden L. S., *Brain Res. Bull.*, 1988, **21**, 233.
O'Hearn E. *et al.*, *J. Neurosci*, 1988, **8** (8), 2788-2803.
Peroutka S. J., *Science*, 1987, **317**, 1542.
Ricaurte G. A., Schuster C. R., Seiden L. S., *Brain Res.*, 1980, **193**, 153-160.
Ricaurte G. A., Seiden L. S., Schuster C. R., *Brain Res.*, 1984, **303**, 359-364.
Ricaurte G. A., Bryan G., Strauss L., Seiden L. S., Schuster C. R., *Science*, 1985, **229**, 986.
Ricaurte G. A., Forno L. S., Wilson M. A., DeLanney L. E., Irwin I., Molliver M. E., Langston J. W., *J. Am. Med. Assoc.*, 1988, **260** (1), 51-55.
Schmidt C. J., Wu L., Lovenberg W., *Eur. J. Pharmacol.*, 1986a, **124**, 175.





Digitized by Google

Schmidt C. J., Wu L., Lovenberg W., *Eur. J. Pharmacol.*, 1986b, **124**, 175.
Schuster C. R., Lewis M., Seiden L. S., *Psychopharm. Bull.*, 1986, **22** (1), 148.
Seiden L. S., Ricaurte G. A., *Neurotoxicity of methamphetamine and related drugs*, in Herbert Y., Meltzer ed., *Psychopharmacology: The Third Generation of Progress*, 1987, Raven Press, New York, pp. 359-366.
Shulgin A. T., *J. Psychoactive Drugs*, 1986, **18**, 291-304.
Wagner G. C., Ricaurte G. A., Seiden L. S., Schuster C. R., Miller R. J., Westley J., *Brain Res.*, 1980, **181**, 151-160.

LEWIS S. SEIDEN E DEBORAH L. COMMINS

## NEUROTRASMETTITORI

F. *neurotrasmetteurs.* - I. *neurotransmitters.* - T. *Neurotransmitter.* - S. *neurotrasmisores.*

SOMMARIO



### Introduzione

Con il termine di *neurotrasmettitore* si intende un composto chimico che, liberato da una terminazione nervosa in seguito ad un potenziale d'azione, interagisce con specifici siti di legame disposti su un secondo neurone o su un effettore, la cui attività viene di conseguenza modificata. In realtà, il recettore postsinaptico non è l'unico bersaglio del n. liberato. Esso può trovare, infatti, dei siti di legame presinaptici che hanno una funzione non più neurotrasmettitoriale, ma neuromodulatrice, modificando, ad es., l'efflusso di n. dalla terminazione. A questo proposito, di particolare rilievo per le implicazioni farmacoterapeutiche è il caso dei recettori alfa-2 presinaptici per la noradrenalina. Una funzione neuromodulatrice è poi svolta dal n. liberato dall'albero dendritico, attraverso l'interazione con recettori disposti sul corpo neuronale: tipica è l'azione inibitoria della dopamina sull'attività di scarica dei neuroni da cui la dopamina stessa è liberata.

Il binomio acetilcolina-noradrenalina dei primi passi nella ricerca sui n. ha aperto la strada ad una lunga lista di n. o candidati tali: tra composti di natura monoaminica, aminoacidica e peptidica, è oggi possibile contare oltre 40 sostanze endogene in grado di soddisfare i requisiti necessari per svolgere le funzioni di neurotrasmissione (tab. I). Di alcune di queste sostanze sono stati identificati, con estrema

TAB. I. ALCUNI NEUROTRASMETTITORI INDIVIDUATI NEL CERVELLO DI MAMMIFERO

**1. Monoamine**
- Acetilcolina
- Dopamina
- Noradrenalina
- 5-idrossitriptamina
- Istamina

**2. Aminoacidi**
- GABA
- Ac. glutammico
- Glicina

**3. Peptidi**
- Encefaline
- Dinorfina
- Sostanza P
- Neurotensina
- Neuropeptide Y

cura, i meccanismi neuronali di sintesi, accumulo, liberazione, recupero e degradazione che regolano in maniera fine il livello della neurotrasmissione.

Di notevole interesse sono l'apparato enzimatico responsabile della sintesi del n. e il suo sistema di trasporto presinaptico, poiché la loro identificazione in un neurone permette di attribuire ad esso il n. in oggetto. È tuttavia importante osservare che il concetto di un neurone-un neurotrasmettitore non costituisce più una regola assoluta. Sono infatti numerosi gli esempi di coesistenza di differenti n. nello stesso neurone. È questo il caso della dopamina e della dinorfina nelle vie nigrostriatali, di serotonina e sostanza P nei nuclei del rafe, di catecolamine ed encefaline nella midollare surrenalica.

Un aspetto rilevante nella neurotrasmissione chimica è costituito dai meccanismi di trasduzione recettoriale del messaggio transinaptico. Di regola, infatti, ogni n. è in grado di legarsi con differenti classi recettoriali, ognuna delle quali, a sua volta, è associata con differenti apparati biochimici intracellulari. È così possibile avere una divergenza nell'azione dello stesso n., attivando recettori dalle funzioni diverse, o addirittura opposte. I recettori adrenergici forniscono da soli una messe abbondante di esempi a questo proposito. Per contro, è possibile avere una convergenza degli effetti di differenti n. Ne consegue che alla liberazione del n. (o dei n. contenuti nella stessa terminazione) si associano eventi neurofisiologici che si differenziano per caratteristiche qualitative, per intensità e per durata.

Alla luce di quanto sin'ora detto, ogni n. fa, per così dire, storia a sé e poco senso avrebbe descrivere sotto lo stesso esponente la neurofisiologia dell'acetilcolina, dei peptidi oppioidi e della serotonina. Pertanto, tratteremo qui un tipo di neurotrasmissione chimica funzionalmente omogenea, essendo caratterizzata dalla induzione di uno *stato eccitatorio* del neurone bersaglio. Ci si riferisce evidentemente alla neurotrasmissione mantenuta dall'ac. glutammico. Per altri n. si rimanda invece ai singoli esponenti (ad es. v. ACETILCOLINA*; DOPA E DOPAMINA*; OPPIOIDI PEPTIDI*; TRIPTAMINA 5-IDROSSI*, etc.).

RED.

### Neurotrasmettitori eccitatori

Un settore delle ricerche sulla neurotramissione attualmente in fase di pieno sviluppo riguarda gli aminoacidi eccitatori [a.a.e.], di cui è stato possibile definire o ipotizzare il ruolo di neuromediatori coinvolti in diversi processi fisiologici o patologici grazie all'identificazione di agonisti e antagonisti selettivi capaci di discriminare vari sottotipi di recettori per gli a.a.e. Gli aminoacidi dicarbossilici glutammico e aspartico sono i più importanti componenti del gruppo: essi sono infatti presenti in elevata concentrazione nel cervello dei mammiferi, esercitano un potente effetto eccitante quando vengano applicati per iontoforesi su diversi neuroni del S.N.C. e provocano convulsioni quando siano iniettati per via intracerebrale nei roditori. Vari derivati sulfinici della cisteina, l'ac. quinolinico e l'N-acetil-aspartil-glutammato, presenti in più basse concentrazioni nel cervello sono ugualmente dotati di azione stimolante e possono quindi considerarsi, al pari degli ac. glutammico e aspartico, agonisti endogeni dei recettori per gli a.a.e. Sul piano sperimentale il ruolo di mediatori degli ac. glutammico e aspartico è sostenuto dalla diminuzione dei livelli di ac. glutammico nella corteccia olfattoria dopo rimozione del bulbo olfattorio; dalla comparsa di effetti eccitatori dopo applicazione iontoforetica di ac. aspartico o glutammico sui neuroni corticali; dalla liberazione di ac. glutammico ed aspartico dalla corteccia e dal nucleo caudato in





Digitized by Google

**TAB. II. SOTTOTIPI RECETTORIALI PER GLI AMINOACIDI ECCITATORI, LORO AGONISTI ED ANTAGONISTI E LORO PROBABILE FUNZIONE**

| | NMDA (N-metil-D-aspartato) | Ac. quisqualico | Ac. kainico |
|---|---|---|---|
| *Agonisti endogeni* | Ac. glutammico<br>Ac. aspartico<br>Ac. quinolinico | Ac. glutammico | |
| *Agonisti selettivi* | NMDA | Ac. quisqualico<br>AMPA | Ac. kainico |
| *Agonisti allosterici* | Glicina<br>D-serina | | |
| *Antagonisti selettivi* | APV, APH, CPP, MK-801, PCP, $Mg^{2+}$, $Zn^{2+}$ | CNQX | *lactonized kainate* |
| *Meccanismo molecolare* | apre un canale al passaggio di ioni $Na^+$ e $Ca^{2+}$ | apre un canale al passaggio di ioni $K^+$ e $Na^+$ | ? |
| *Funzione* | EPSP (*excitatory postsynaptic potentials*) lenti | EPSP rapidi | ? |

conseguenza della loro stimolazione elettrica; infine dalla diminuzione dell'efflusso di ac. glutammico da fettine di ippocampo precedentemente sottoposte a deafferentazione. Sono stati inoltre evidenziati sia per l'ac. glutammico che aspartico un rilascio sinaptico calcio-dipendente e una ricaptazione neuronale sodio-dipendente.

L'esistenza di vari sottotipi di recettori per gli aminoacidi eccitatori (tab. II), prima ipotizzata sulla base di differenze regionali nella relativa potenza dei vari aminoacidi eccitatori, è stata successivamente confermata mediante la sintesi di agonisti e di antagonisti selettivi. I primi antagonisti disponibili sono stati gli ioni magnesio, il composto HA966 (3-amino-1-idrossi-2-pirrolidone) e un analogo dell'ac. glutammico a catena lunga, l'ac. D-alfa-aminoadipico. Il fatto che essi fossero in grado di antagonizzare gli effetti eccitanti di un analogo dell'ac. glutammico, l'N-metil-D-aspartato (v.*; NMDA), ma non quelli di altri analoghi dell'ac. glutammico o aspartico, portò a distinguere, fra i recettori degli a.a.e. i due sottotipi NMDA e non-NMDA.

L'ac. glutammico, l'ac. aspartico, e la cisteina agiscono sia su recettori NMDA sia su recettori non-NMDA, in quanto i loro effetti sono solo parzialmente inibiti dagli antagonisti NMDA. Inoltre, l'azione elettrofisiologica dell'ac. glutammico è diversa da quella indotta dall'NMDA e dall'ac. aspartico.

Mentre il primo induce una progressiva depolarizzazione neuronale con proporzionale incremento della frequenza di scarica dei potenziali d'azione, l'ac. aspartico e l'NMDA inducono un'attività oscillatoria del potenziale di membrana con intermittenti depolarizzazioni parossistiche seguite da brevissime ripolarizzazioni.

Nell'ambito degli antagonisti dell'NMDA, gli ioni $Mg^{2+}$ rivestono un particolare interesse in quanto la loro attività inibitrice non ha carattere competitivo nei confronti dell'agonista, ma si esercita, alle normali concentrazioni dello ione nel liquido extracellulare, attraverso il blocco del canale ionico NMDA-dipendente; questo blocco si realizza, solo in fase di apertura del canale, a condizione che il potenziale di membrana sia superiore a un certo livello critico: da queste caratteristiche sembrano dipendere gli aspetti funzionali dell'attivazione dei recettori NMDA (v. sotto). Sul canale ionico agiscono pure altri antagonisti non competitivi dell'NMDA, quali gli anestetici dissociativi ketamina e fenciclidina (PCP), gli agonisti dei recettori sigma degli oppiacei e un anticonvulsivante, l'MK-801 (v.*).

L'esistenza di un sito allosterico di regolazione dell'attivazione del recettore NMDA si basa sul constatato potenziamento o sulla depressione degli effetti di questa attivazione da parte di regolatori allosterici con funzione positiva (glicina e, con minore efficacia, serina e alanina) o, rispettivamente negativa ($Zn^{2+}$, ac. kinurenico, e HA966) (fig. 1). L'azione della glicina non è antagonizzata dalla stricnina e non coinvolge quindi il recettore che media la azione inibitrice della glicina sugli interneuroni spinali. L'ipotesi di una modulazione allosterica esercitata dalla glicina con meccanismo simile a quello con cui le benzodiazepine modulano l'azione del GABA non è da tutti condivisa; l'ipotesi alternativa vede nella glicina un co-agonista degli a.a.e. i quali sarebbero in grado di agire sui canali cationici che da essi dipendono solo quando il sito di riconoscimento della glicina sia occupato da questo aminoacido. In questo caso i modulatori allosterici negativi agirebbero spostando la glicina dal suo sito di legame.

Antagonisti recettoriali competitivi dell'NMDA sono l'ac. D-alfa-aminoadipico, l'ac. 2-amino-5-fosfone-valerico (APV) e l'ac. 2-amino-7-fosfone-eptanoico (APH).

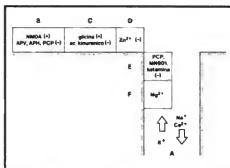



Fig. 1. Schema del recettore NMDA e del canale associato. A: canale associato al recettore NMDA permeabile agli ioni calcio, potassio e sodio; B: recettore NMDA; C e D: siti di regolazione allosterica del recettore; E e F: siti di regolazione del canale; (+): attivazione; (−): inibizione. NMDA) N-metil-D-aspartato; APV) ac. 2-amino-5-fosfone-valerico; APH) ac. 2-amino-7-fosfone-eptanoico; PCP) fenciclidina.





Digitized by Google

Studi autoradiografici e di *binding* hanno evidenziato la presenza ubiquitaria di recettori NMDA nel cervello, con densità particolarmente elevata nell'ippocampo e nella corteccia cerebrale. Nel cervelletto non è stato possibile localizzare, pur utilizzando metodologie diverse, la presenza dei recettori NMDA sui dendriti delle cellule di Purkinje. Tuttavia la dimostrazione di un rilascio di ac. glutammico e aspartico da parte di fibre rampicanti e parallele tende a localizzare i recettori cerebrali NMDA sulle cellule a canestro piuttosto che su quelle del Purkinje.

Attivatori selettivi dei recettori non-NMDA sono l'ac. kainico, un antielmintico che esercita un potente effetto eccitatorio sui neuroni corticali, e l'ac. quisqualico, i cui effetti eccitanti sono stati inizialmente osservati sulla giunzione neuromuscolare del granchio e sul midollo spinale di rana. I loro effetti stimolanti sono relativamente insensibili agli antagonisti NMDA e comportano l'attivazione di due distinti sottotipi recettoriali, per l'uno o per l'altro dei due agonisti. Questa distinzione si basa sulla diversa sensibilità ad una serie di antagonisti, comunque piuttosto deboli e poco selettivi e su una marcata differenza di attività dei due agonisti su diversi sistemi effettori. Mentre l'azione dell'ac. quisqualico è particolarmente intensa sulla giunzione neuromuscolare degli insetti o dei crostacei, quella dell'ac. kainico è soprattutto evidente sulle fibre nervose del mammifero, come le fibre C. Studi di *binding* recettoriale hanno tuttavia dimostrato che l'ac. quisqualico non è uno specifico agonista per un singolo sottotipo recettoriale, giacché presenta una moderata affinità anche per i siti di ricognizione dell'ac. $^3$H-kainico oltre che per differenti siti di ricognizione dell'ac. $^3$H-glutammico.

Più selettivo risulta un analogo strutturale dell'ac. quisqualico, il 4-propionato di DL-alfa-amino-3-idrossi-5-metilossazolo (AMPA) che non si lega ai siti di ricognizione dell'ac. $^3$H-glutammico ed esercita effetti eccitanti inibiti dal dietilestere dell'ac. glutammico, un antagonista non-NMDA particolarmente efficace nei confronti dell'ac. quisqualico. Il composto 6-ciano-7-nitroquinoxalino-2,3 dione (CNQX) è un altro antagonista dell'AMPA e dell'ac. quisqualico peraltro attivo anche come inibitore dell'ac. kainico.

Nel S.N.C. i recettori dell'ac. quisqualico hanno una distribuzione ubiquitaria che si sovrappone a quella dei recettori NMDA. I recettori dell'ac. kainico risultano viceversa concentrati in poche aree cerebrali, come nello strato lucido dell'ippocampo ove sono presenti in associazione ai recettori NMDA e a quelli dell'ac. quisqualico. Essi sono inoltre presenti, in assenza di altri tipi di recettori per gli a.a.e., nelle fibre C.

Due ulteriori sottotipi di recettori per gli a.a.e. sono stati identificati in base a peculiari effetti funzionali o biochimici. Uno di questi, attivato dal 2-amino-4-fosfonobutirrato (LAPB) sarebbe responsabile degli effetti depressivi che tale composto esercita su alcune vie eccitatorie ippocampali e spinali. Se ne è ipotizzata la localizzazione presinaptica con funzione autorecettoriale di moderazione della liberazione sinaptica di ac. glutammico. A livello retinico, l'attivazione di un recettore LAPB induce iperpolarizzazione delle cellule bipolari. L'altro sottotipo recettoriale, definito recettore metabotropo dell'ac. glutammico, è attivato dall'ac. quisqualico e dall'ac. ibotenico (altro derivato dell'ac. glutammico con proprietà di agonista non selettivo dei recettori degli a.a.e.). La stimolazione del recettore metabotropo attiva la fosfolipasi C con formazione di secondi messaggeri quali l'inositolo-1,4,5-trifosfato e il diacilglicerato responsabili rispettivamente della liberazione del calcio dai depositi intracellulari e dell'attivazione della fosfochinasi C. Il recettore metabotropo non è influenzato da antagonisti NMDA o non-NMDA, ma è bloccato dalla tossina della pertosse.

Meglio definiti sono i meccanismi attivati dai recettori NMDA e non-NMDA. I primi sono responsabili dell'apertura dei canali cationici che condizionano la penetrazione del $NA^+$ e del $Ca^{2+}$ e la fuoriuscita del $K^+$; i secondi portano all'apertura dei canali utilizzati per il passaggio dei soli cationi monovalenti. L'attivazione dei recettori non-NMDA è quindi responsabile dei potenziali eccitatori post-sinaptici rapidi riferibili agli spostamenti del $Na^+$ e del $K^+$. Più complessi sono i fenomeni legati all'attivazione dei recettori NMDA. Data l'inibizione che normalmente esercita il $Mg^{2+}$ sul canale ionico NMDA-dipendente, l'attivazione di questo recettore può solo portare ad un fugace scambio $Na^+$-$K^+$ che si addiziona a quello dipendente dalla stimolazione non-NMDA. Solo quando, in conseguenza di stimoli ripetitivi, si accentuano gli effetti depolarizzanti dello scambio $Na^+$-$K^+$ e compaiono fenomeni di fatica nell'inibizione che normalmente esercitano gli interneuroni GABAergici sugli effetti degli a.a.e., il potenziale di membrana cade al di sotto dei valori critici e viene a mancare l'azione inibitrice del $Mg^{2+}$. Si verifica di conseguenza un significativo passaggio del $Ca^{2+}$ dal compartimento extra- a quello intracellulare con la comparsa di potenziali eccitatori post-sinaptici lenti. A questi fenomeni lenti si assegna il ruolo di promotori del potenziamento a lungo termine (*long term potentiation*: LTP) un fenomeno che viene prevenuto solo dagli antagonisti NMDA.

La LTP si evidenzia in diverse vie dell'ippocampo e della neocorteccia con una facilitazione della trasmissione sinaptica (aumento di ampiezza dei potenziali eccitatori post-sinaptici rapidi) che dura a lungo (oltre la mezz'ora) e segue una breve stimolazione ad alta frequenza delle stesse vie. La LTP costituirebbe il primo stadio del meccanismo di plasticità sinaptica che, attraverso l'aumento del $Ca^{2+}$ intracellulare, la sintesi di inositolo-1,4,5-trifosfato, l'eventuale accentuazione della liberazione di a.a.e. e della reattività dei recettori per il quisqualato, dovrebbe concludersi con un vero e proprio riarrangiamento anatomico con consolidamento di alcune vie sinaptiche a spese di altre secondo il classico modello intuito da Hebb negli anni '40.

Equivalenti funzionali di questa plasticità sinaptica sarebbero i processi di memorizzazione di informazioni con carattere di orientamento spaziale che, nella scimmia, vengono inibiti dall'APV senza peraltro interferire con il richiamo di informazioni dello stesso carattere già acquisite. Questi effetti dell'APV si ottengono con dosi che inibiscono la LTP.

Sul piano patologico un'attivazione dei recettori NMDA sembra entrare in gioco nel favorire l'estrinsecarsi e il generalizzarsi dei fenomeni convulsivi. In ceppi di topi o di scimmie selezionati in base alla loro tendenza a rispondere con convulsioni a stimoli sensoriali, gli inibitori NMDA deprimono queste risposte. Ancora più tipica è l'inibizione del *kindling*, un processo nel quale brevi stimolazioni ad alta frequenza inizialmente inattive portano, se ripetute giornalmente sulle stesse aree cerebrali, a fenomeni epilettiformi focali, inizialmente evidenziabili sul piano elettroencefalografico, ma che successivamente si prolungano e si generalizzano con la comparsa di vere e proprie crisi cloniche. Anche in questo caso il processo viene inibito dagli antagonisti NMDA in dosi che bloccano la LTP.

In campo di patologia organica, l'iniezione intracerebrale di elevate dosi di NMDA, di ac. ibotenico, di ac. quinolinico o kainico provoca una degenerazione neuronale locale, sostenendo l'ipotesi che questa sia dovuta a un eccesso di stimolazione dei recettori degli a.a.e. Il coinvolgimento di questi recettori in modelli di patologia cerebrale



Digitized by Google

di natura ischemica, anossica o traumatica è sostenuto dagli effetti protettivi dell'MK-801 (v.*). All'azione eccitotossica degli a.a.e. sono state attribuite sia le lesioni neurologiche del latirismo (nei semi di *Latyrus sativus* è presente l'agonista beta-N-oxalil-L-alfa, beta diaminopropionato: ODAP) e sia quelle della sclerosi laterale amiotrofica con sindrome parkinsoniana e demenziale osservata nell'isola di Guam ove si consumano i semi di *Lycas circinalis* contenenti un altro agonista dei recettori per gli a.a.e., il BMAA (beta-N-metilamino-L-alanina). L'ac. quinolinico è stato chiamato in causa quale possibile agente endogeno responsabile della corea di Huntington, mentre nella sclerosi laterale amiotrofica e nelle demenze di tipo Alzheimer si è ipotizzato l'intervento di anomalie nel metabolismo o nel trasporto del glutammato. V. anche NEUROTOSSINE*.

**Bibliografia**


Collingridge G. L., Lester R. A. J., *Pharmacol. Rev.*, 1989, **41**, n. 6, 143-210.
Cotman C. W., Iversen L. L., *Trends in Neuroscience*, 1987, **10**, n. 7, 263-303.
Jansen K. L. M., Faull R. L. M., Dragunow M., *Neuroscience*, 1989, **32**, 587-607.
Marmo E., *Ac. L-glutammico e L-glutammina come mediatori del S.N.C.*, 1985, Edizioni Minerva Medica, Torino.
Meldrum B., *Clinical Science*, 1985, **68**, 113-122.
Olney J. W., *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 1990, **30**, 47-71.
Reynold I. J., *Life Sciences*, 1990, **47**, 1785-1792.
Stone T. W., Burton N. R., *Progress in Neurobiology*, 1988, **30**, 333-368.
Watkins J. C., Evans R. H., *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 1981, **21**, 165-204.
Willetts J., Balster R. L., Leander J. D., *Trend in Pharmacological Sciences*, 1990, **11**, 423-428.


STEFANO SAGRATELLA

## NEVRITI [v. vol. X, col. 1100]

SOMMARIO



### Introduzione

La nosografia delle affezioni del sistema nervoso periferico si è ulteriormente estesa per la possibilità di discriminare sottogruppi nell'ambito di categorie già note, per il più ampio spettro di cause tossiche e malattie sistemiche associate e per l'emergere di nuove entità nosologiche. In un contesto ampio di etiologie e manifestazioni cliniche il procedimento logico che conduce alla diagnosi passa, in via preliminare, attraverso l'inquadramento per categorie sindromiche e quelle elaborate in base a criteri di topografia della lesione (*mononeuropatie, mononeuropatie multiple, polineuropatie*) mantengono la loro validità.

Le *mononeuropatie* sono per lo più riconducibili a cause meccaniche e infiammatorie; le *mononeuropatie multiple* riconoscono uno spettro relativamente limitato di etiologie (principalmente vasculiti, diabete, sarcoidosi; raramente neuroborreliosi, infezioni da HIV, compressioni multiple in corso di neoplasie); le *polineuropatie* comportano la diagnosi differenziale più ampia.

Utile può risultare l'orientamento sindromico basato sull'età d'insorgenza: nei bambini e giovani adulti prevalgono le neuropatie infiammatorie e genetiche; nell'adulto la presenza di una polineuropatia a progressione lenta deve orientare verso forme infiammatorie demielinizzanti croniche, paraproteinemie e neuropatie genetiche ad esordio tardivo; nell'età avanzata il diabete mellito, le neuropatie paraneoplastiche e ancora le paraproteinemie sono cause preminenti.

Una revisione della materia basata sull'etiologia (tab. I) appare tuttavia più idonea all'elaborazione di un aggiornamento che si limita, anche per esigenze di spazio, ad alcuni aspetti delle neuropatie periferiche.

**TAB I. CLASSIFICAZIONE ETIOLOGICA DELLE NEUROPATIE PERIFERICHE**

| |
|---|
| Neuropatie da agenti fisici |
| Neuropatie in corso di malattie sistemiche |
| Neuropatie da tossici e stati carenziali |
| Neuropatie infiammatorie e disimmuni |
| Neuropatie di origine genetica |
| Neuropatie infettive |
| Neuropatia aspecifica dell'anziano |
| Neuropatie criptogeniche |

### Neuropatie associate a malattie sistemiche

Costituiscono una novità le prospettive terapeutiche che si collegano all'ipotesi secondo cui le neuropatie periferiche associate a *diabete* dipendono dall'attivazione della via metabolica dei polioli. L'aumento intracellulare di sorbitolo e fruttoso — indotti dall'iperglicemia e regolati dall'enzima aldoso-reduttasi — e la conseguente riduzione del contenuto di mio-inositolo comportano difetti energetici e funzionali che potrebbero essere corretti da farmaci inibitori dell'enzima aldoso-reduttasi.

La prevalenza della *neuropatia paraneoplastica* dipende dalla diligenza con la quale viene ricercata: se si applicano criteri elettrodiagnostici si rileva in circa la metà delle neoplasie polmonari (Brown, 1991). La diagnosi etiologica non è facile sia perché la neuropatia periferica non ha sempre caratteristiche distintive, sia perché l'esordio clinico può precedere quello della soggiacente neoplasia. La neuropatia periferica può essere isolata o associarsi ad altre manifestazioni encefalomielopatiche paraneoplastiche. La forma più frequentemente osservata è probabilmente quella mista *sensitivo-motoria subacuta* con parestesie dolorose e atrofie muscolari, mentre la varietà con caratteristiche relativamente peculiari è quella *subacuta sensitiva* che è propriamente una *neuronopatia* per l'iniziale sofferenza delle cellule gangliari delle radici posteriori (ganglioradicolite) e successiva degenerazione walleriana, sia verso la periferia che verso le colonne posteriori del midollo. I sintomi distintivi sono ipoestesia, parestesie e atassia. In relazione alla sede della neoplasia, il polmone precede lo stomaco e seguono in ordine decrescente mammella, colon, retto.

Una neuronopatia subacuta motoria e polineuropatie sensitivo-motorie assimilabili alle forme demielinizzanti acute del tipo Guillain-Barré e sue varianti croniche si possono associare ai *linfomi* (v. sotto).

Le neuropatie periferiche associate a *paraproteinemie* si verificano in corso di *malattie linfoproliferative* e *discrasie plasmacellulari* nelle quali, come è noto, cloni di linfociti B e plasmacellule proliferano abnormemente producendo un eccesso di anticorpi circolanti monoclonali (M-proteine), o paraproteine (nella grande maggioranza dei casi di tipo IgG, IgA, IgM).

L'incidenza di neuropatie associate ad affezioni immunoproliferative IgM-secernenti (leucemie linfatiche croniche, linfomi non-Hodking con basso grado di malignità, morbo di Waldenström) è maggiore di quella associata con altre classi di immunoglobuline e viene stimata in alcune casistiche nell'ordine del 50%. In circa la metà dei casi la para-




Digitized by Google

proteina IgM si lega alla glicoproteina associata alla mielina (*MAG = Myelin Associated Glycoprotein*) e ad altre glicoproteine del nervo periferico (Latov, 1989). La biopsia, effettuata generalmente nel nervo surale, rivela demielinizzazione, talvolta associata a degenerazione assonale.

In alcuni individui la presenza di paraproteina IgM si associa ad una malattia del II motoneurone (neuronopatia) o a una neuropatia motoria (Rowland *et al.*, 1982).

In corso di mielomi e gammopatia monoclonale di incerto significato (*MGUS = Monoclonal Gammopathy of Uncertain Significance*), una neuropatia periferica risulta evidente clinicamente nel 5-10% dei casi e con indagini elettrofisiologiche in una percentuale più elevata di soggetti. Nel mieloma osteosclerotico la sofferenza del sistema nervoso periferico si verifica in oltre il 50% dei casi (Kelly *et al.*, 1983), ma questa è una varietà rara che rappresenta solo l'1-2% di tutti i mielomi. In alcuni soggetti la paraproteinemia IgG e IgA provoca la sindrome *POEMS* in cui coesistono *p*olineuropatia, *o*rganomegalia, *e*ndocrinopatia, proteine *m*onoclonali e alterazioni cutanee (*skin*).

Al contrario delle IgM, le paraproteine IgG e IgA non reagiscono con la MAG.

Complessivamente le neuropatie periferiche in corso di paraproteinemie rappresentano una quota non trascurabile tra quelle a esordio tardivo e si osservano prevalentemente in individui maschi, talvolta quale sintomo d'esordio della malattia sistemica. Il quadro clinico è piuttosto omogeneo con neuropatia periferica sensitivo-motoria, simmetrica distale, lentamente progressiva; i nervi cranici e le funzioni autonomiche sono generalmente indenni; si associano tremore intenzionale, atassia, atrofie muscolari, aumento delle proteine liquorali.

La patogenesi si può ricondurre a un'attività autoanticorpale della paraproteina e, in subordine, ad amiloidosi per deposito di frammenti (ad es. catene leggere) nell'endonevrio, a una vasculite causata da M-proteine con attività di fattore reumatoide o crioglobulinemica, a diretta infiltrazione dei nervi da parte delle cellule proliferanti e probabilmente per altri fattori umorali (non necessariamente immunoglobuline) prodotti dal clone proliferante.

Le *sindromi vasculitiche* hanno una patogenesi immunologica e pertanto le complicanze neurologiche potrebbero trovare spazio anche nel successivo capitolo. Il convolgimento del sistema nervoso periferico è rilevabile in sede autoptica nel 32% della classica poliarterite nodosa (Fauci, 1991); si osserva nell'angite di Churg-Strauss, nella granulomatosi di Wegener e nelle varianti con caratteristiche miste (*Polyangiitis Overlap Syndrome*). In taluni casi la sofferenza del sistema nervoso periferico può precedere i sintomi e segni sistemici; in altri, questi segni possono essere modesti o assenti e configurare quadri di sofferenza «isolata» dei nervi periferici (Dyck *et al.*, 1987).

Nelle *connettiviti* (lupus eritematoso sistemico e artrite reumatoide) si osserva un interessamento clinicamente manifesto del sistema nervoso periferico nell'ordine del 10%. Anche nelle connettiviti la patogenesi risiede nella vasculite dei *vasa nervorum* e tuttavia l'intrappolamento in prossimità di articolazioni in flogosi, il deposito di amiloide e talvolta l'effetto tossico dei farmaci somministrati costituiscono meccanismi patogenetici alternativi o complementari alla vasculite. I quadri clinici caratteristici dell'interessamento del sistema nervoso periferico nelle vasculiti sono sostanzialmente: *a*) mononeuropatia multipla; *b*) mononeuropatia multipla estensiva tale da simulare un quadro «polineuritico», ma con possibilità di evidenziare, con indagine neuroelettrica, l'interessamento differenziato di singoli nervi; *c*) neuropatia distale simmetrica sensitivo-motoria.

**Neuropatie infiammatorie e disimmuni**

La fisiopatologia della *poliradicolonevrite infiammatoria acuta* (V. GUILLAIN-BARRÉ, SINDROME DI*) e variante *cronica* rimane incerta nonostante queste affezioni continuino a destare grande interesse teorico e clinico (incidenza nell'ordine di 12 casi/1.000.000/anno per la sindrome di Guillain-Barré). È possibile che oltre ad anticorpi anti-mielina siano attivi fattori mielotossici e immunopatogeni.

La *poliradicolonevrite infiammatoria cronica* decorre con andamento lento monofasico oppure con alternanza di recidive e remissioni; l'esordio è solitamente graduale, ma l'insorgenza acuta non è infrequente (McCombe *et al.*, 1987).

Nella terapia della sindrome di Guillain-Barré non è provata l'utilità dei corticosteroidi mentre ripetute plasmaferesi, effettuate negli stadi iniziali della malattia, ne riducono la durata e probabilmente prevengono la progressione dei sintomi (McKhann, 1990; French cooperative group on plasma exchange in Guillain-Barré syndrome, 1987); nella poliradicolonevrite infiammatoria cronica gli immunosoppressori sono efficaci a dosi elevate e protratte.

**Neuropatie infettive**

Il panorama nosografico delle nevriti «infettive», rappresentato classicamente da *lebbra, difterite, sarcoidosi, herpes zoster* e raramente da *mononucleosi infettiva, epatite virale* e *brucellosi* (Bahemuka, 1988), si è ampliato con i quadri di sofferenza del sistema nervoso periferico nella *sindrome di Garin-Boujadoux-Bannwarth* o *malattia di Lyme* e in corso di *infezione da virus HIV*.

La *malattia di Lyme* (V. LYME, MALATTIA DI*) è causata dalla spirocheta *Borrelia burgdorferi* veicolata dalla zecca *Ixodes dammini*. L'affezione è abitualmente multisistemica e, come accade in altre spirochetosi, le manifestazioni cliniche variano secondo lo stadio di evoluzione. Le manifestazioni neurologiche (meningite, encefalopatia o mielopatia larvate, n. craniali, mono-poliradicolonevriti motorie e/o sensitive) isolate o in varie combinazioni sono tipiche del secondo stadio di malattia (dopo settimane o mesi dall'esordio) e in circa il 15% dei casi. Le forme croniche raramente interessano soltanto il sistema nervoso periferico (paralisi dei nervi cranici, mono-poliradicolonevrite, sindrome della *cauda* equina, quadri a tipo sindrome di Guillain-Barré) comprendendo di solito una complessa sintomatologia a carico del S.N.C. (encefalopatia progressiva, demenza, mielite trasversa, etc.) (Logigian *et al.*, 1990). La conferma diagnostica è basata sulla positività dei test sierologici e dimostrazione di anticorpi IgG intratecali per la *B. burgdorferi*.

Nel corso d'*infezione da virus HIV* vengono osservate differenti forme di neuropatia e recenti casistiche confermerebbero l'ipotesi secondo cui ciascun tipo di neuropatia periferica si manifesta preferenzialmente durante specifiche fasi della malattia (Griffin *et al.*, 1990). Nella fase di sieroconversione è più frequente una forma di *polineuropatia infiammatoria demielinizzante* caratterizzata da notevole debolezza degli arti; vengono anche descritte paralisi facciali periferiche sovente associate a meningite asettica, neurite brachiale mono-bilaterale. Si tratta di quadri transitori, ad evoluzione generalmente benigna, per i quali mancano correlati anatomopatologici. Negli stadi successivi della malattia è piuttosto comune una sofferenza subclinica del sistema nervoso periferico e, relativamente ai quadri clinici manifesti, prevalgono forme di *polineuropatia distale simmetrica*, abitualmente caratterizzata da parestesie dolorose, *polineuropatia demielinizzante infiammatoria subacuta* e *cronica*, *mononeuropatia multipla*. Con il progredire della immunodeficienza, le infezioni opportunisti-





Digitized by Google

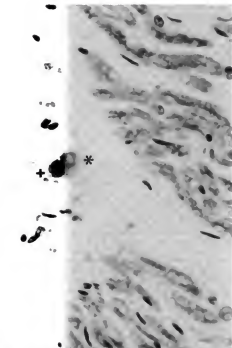



Fig. 1. Individuo affetto da sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS). Nella sezione trasversale di una radice della *cauda equina* si osserva inclusione da citomegalovirus (+) nel nucleo di una cellula di Schwann (*) adiacente ad una fibra nervosa mielinizzata. Colorazione ematossilina-eosina, 480 ×. (*Osservazione F. Scaravilli*).

che (in particolare citomegalovirus; fig. 1) e tumori (linfomi) possono complicare i quadri di sofferenza del sistema nervoso periferico. Sul piano istopatologico la demielinizzazione è più evidente negli stadi iniziali della malattia, mentre la degenerazione assonale prevale nelle fasi successive.

**Neuropatia aspecifica dell'anziano**

Un grado più o meno modesto di compromissione della sensibilità vibratoria e talvolta di altre modalità sensitive, indebolimento o perdita dei riflessi achillei si rileva in molti soggetti anziani; talvolta coesistono parestesie. Le manifestazioni caratteristiche iniziano negli arti inferiori e distalmente. Il correlato elettrofisiologico è rappresentato da una diminuzione d'ampiezza dei potenziali evocati e dal rallentamento della velocità di conduzione nervosa periferica (dell'ordine del 10% a partire dai 60 anni). Generalmente il quadro rimane subclinico e non evolve a livelli d'incapacità funzionale.

La causa è multifattoriale. In rapporto all'invecchiamento si osservano fenomeni di degenerazione assonale distale del tipo «a ritroso», difetto delle sintesi proteiche e del trasporto assonale, perdita cellulare nelle corna anteriori e nei gangli delle radici dorsali, alterazioni vascolari dei *vasa nervorum*. Anche microtraumatismi ripetuti ed intrappolamenti possono contribuire al quadro di senescenza del sistema nervoso periferico (Scaravilli, 1989; Thomas, 1989).

**Neuropatie criptogeniche**

Non è facilmente stimabile, per la variabilità dei metodi d'indagine e selezione della casistica, la percentuale di neuropatie nelle quali non si identifica la causa.

Una quota di neuropatie ad etiologia inizialmente non determinata è rappresentata dalle gammopatie monoclonali (Kelly *et al.*, 1981). È pur vero che nella popolazione anziana normale la gammopatia monoclonale ha un'incidenza piuttosto elevata (dell'ordine dell'1%) con progressione età-dipendente, la qual cosa rende fortuita in alcuni casi l'associazione delle due condizioni morbose.

Un altro gruppo di neuropatie inizialmente «criptogeniche» che, dopo osservazione protratta della malattia, si prestano ad una revisione diagnostica sono quelle associate alle vasculiti (v. sopra, col. 5423).

Neuropatie assonali lentamente progressive e mononeuropatie multiple croniche, specie dell'anziano, sono le varietà che frequentemente sfuggono alla definizione etiologica; in questi casi un'accurata indagine elettrofisiologica in membri della famiglia può rivelare alterazioni subcliniche ehe depongono per una neuropatia genetica (generalmente sensitivo-motoria, di tipo II secondo la corrente classificazione), la quale può esordire anche in età adulta (Thomas, 1982).

**Bibliografia**

Bahemuka M. *et al.*, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.*, 1988, **51**, 1017-1021.
Brown R. H. jr., *Paraneoplastic Neurologic Syndromes*, in *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 1991, McGraw-Hill, New York, pp. 1641-45.
Dyck P. J. *et al.*, *Brain*, 1987, **110**, 843-854.
Fauci A. S., *The Vasculitis Syndromes*, in *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 1991, McGraw-Hill, New York, pp. 1456-1463.
French cooperative group on plasma exchange in Guillain-Barré syndrome, *Ann. Neurol.*, 1987, **22**, 753.
Griffin J. W., McArthur J. C., Cornblath D. R., *Curr. Opinion Neurol. Neurosurg.*, 1990, **3**, 697-703.
Kelly J. J., Kyle R. A., O'Brien P. C., Dyck P. J., *Neurology*, 1981, **31**, 1480.
Kelly J. J., Kyle R. A., Miles J. M., Dyck P. J., *Neurology*, 1983, **33**, 202.
Latov N., *Neuropathy and Monoclonal Gammopathy*, in Assal J-Ph., Liniger C. eds., *Peripheral Neuropathies 1988. What is Significantly New?*, 1989, Fidia Research Series, vol. 21, Liviana Press, Padova, pp. 317-331.
Logigian E. L., Kaplan R. F., Steere A. C., *N. Engl. J. Med.*, 1990, **323**, 1438-1844.
McCombe P. A., Pollard J. D., McLeod J. G., *Brain*, 1987, **110**, 1617-1630.
McKhann G. M., *Ann. Neurol.*, 1990, **27** (Suppl.), 13-16.
Rowland L. P. *et al.*, *Ann. Neurol.*, 1982, **11**, 532-36.
Scaravilli F., *Modificazioni della struttura neuronale e delle popolazioni cellulari in rapporto all'invecchiamento*, in Thomas P. K. ed., *Alterazioni del nervo periferico in età avanzata*, 1989, *New Issues in Neurosciences*, pp. 11-20.
Thomas P. K., *Differential Diagnosis of Peripheral Neuropathies*, in Refsum, Bolis, Portera-Sanchez eds., *International Conference on Peripheral Neuropathies*, 1982, Excerpta Medica, pp. 76-81.
Thomas P. K. *La neuropatia dell'età avanzata*, in Thomas P. K. ed., *Alterazioni del nervo periferico in età avanzata*, 1989, *New Issues in Neurosciences*, pp. 21-34.

AGOSTINO NAPPO

**NEVROGLIA** [v. vol. IX, col. 1119]

SOMMARIO







Digitized by Google

**azioni neurone-glia nel S.N.C. in epoca postnatale** (col. 5428): *Neurotrasmettitori e neuromodulatori.* - *Substrati metabolici.* - *Fattori trofici.* - **Interazioni glia-sistema immunitario** (col. 5431).

**Introduzione**

Numerosi risultati sperimentali degli ultimi anni indicano che le interazioni tra cellule gliali e neuroni sono assai più complesse rispetto ai ruoli tradizionalmente attribuiti alla *nevroglia*, intesa come un generico supporto trofomeccanico degli elementi nervosi o il mezzo di rimozione di detriti neuronali formatisi a seguito di lesioni nervose di varia natura. Le interazioni neurone-glia si istituiscono già durante lo sviluppo embrionale del sistema nervoso e proseguono per tutta la vita, conferendo alle cellule gliali un ruolo di primaria importanza nell'assicurare la sopravvivenza dei neuroni.

**Interazioni neurone-glia nello sviluppo del S.N.C.**

*Ruolo nella migrazione neuronale*

Nel corso dello sviluppo embrionale del sistema nervoso centrale (S.N.C.) si verificano interazioni critiche tra glia astrocitaria e neuroblasti. È noto che la parete del tubo neurale è costituita da una zona ventricolare rappresentata da cellule proliferanti e da una zona marginale costituita da cellule sparse, separate da una zona intermedia caratterizzata da cellule postmitotiche; tra le due è collocata la zona subventricolare costituita da cellule allineate radialmente i cui prolungamenti si affondano nello spessore della parete stessa. Queste cellule, considerate astrociti embrionali, costituiscono la cosiddetta *glia radiale* e servono da guida per la migrazione che i neuroblasti postmitotici compiono dalla zona subventricolare verso i successivi strati della futura corteccia cerebrale. Usando come guida il prolungamento della glia astrocitaria radiale a cui si abbarbicano, i neuroblasti migranti raggiungono la loro destinazione. Gli astrociti della glia radiale non si ritrovano nel S.N.C. dell'adulto e si presume pertanto che degenerino o si trasformino in veri e propri astrociti dopo che la migrazione neuronale si completa. Disordini della funzione guida della glia radiale nella corteccia cerebrale condizionano negativamente la migrazione neuronale e possono essere responsabili di malformazioni cerebrali umane (agiria, pachigiria) con microcefalia e ritardo mentale; il dato istopatologico caratteristico consiste nella localizzazione eterotopica di neuroni al di sotto della corteccia cerebrale in distretti occupati di norma da sostanza bianca.

Analoga funzione di guida nei confronti delle cellule granulari del cervelletto durante lo sviluppo viene attribuita ai *gliociti di Bergmann*, forme specializzate di astrociti. Un'alterazione di questa funzione compromette la migrazione delle cellule granulari dallo strato esterno allo strato interno cerebellare.

Anche nel midollo spinale umano nel corso dello sviluppo è stata valorizzata la funzione guida della glia radiale sia nei confronti di neuroni migranti che di quelli non migranti nei quali orientano i contatti e le corrette connessioni dei prolungamenti assonici. Recenti studi di microscopia elettronica a scansione sullo sviluppo della retina chiariscono infine che anche in questo distretto nervoso le *cellule gliali di Müller* svolgono un'analoga funzione guida nei confronti dell'orientamento di cellule gangliari migranti con cui entrano in contatto.

*Ruolo nella mielinizzazione neuronale nel S.N.C. e periferico*

Un ritardo nella maturazione e proliferazione dell'oligodendroglia e un'alterazione delle sue funzioni alterano la mielinogenesi. Tale situazione può verificarsi a seguito di danni intrauterini o postnatali; per es. nei ratti resi ipotiroidei alla nascita si rilevano aree di demielinizzazione a livello cerebrale per una mancata migrazione corticale di oligodendrociti.

Una forma genetica di dismielinizzazione (mancanza della formazione normale di mielina) è stata osservata in topi mutanti recessivi denominati *Jimpy* come carattere legato al sesso. In questi animali un decremento nella maturazione e nella proliferazione dell'oligodendroglia è associato con la mancata mielinizzazione e con un accumulo di goccciole lipidiche nell'oligodendroglia. Questa alterazione genetica è simile a quella riscontrata nella *leucodistrofia sudanofila*, associata con un mancato raggiungimento della mielinizzazione.

**Interazioni neurone-glia nel S.N.C. in epoca postnatale**

La presenza di connessioni tra astrociti e cellule endoteliali suggerisce che il trasporto attraverso astrociti e capillari può rivestire importanza negli scambi tra neuroni e sistema vascolare e fa intravedere anche la possibilità che sostanze rilasciate dagli astrociti possano esercitare una diretta funzione regolatrice sui microvasi.

La microscopia elettronica, dal canto suo, fornisce la documentazione aggiuntiva che le espansioni terminali astrocitarie sono collegate tra loro da dispositivi giunzionali del tipo *tight junctions*, talmente stipati da costituire una sorta di unica espansione velamentosa, la *membrana limitante gliale perivascolare*. A differenza di quanto ritenuto in passato, questa non acquista il significato di barriera limitante la diffusione di sostanze dal tessuto nervoso ai tessuti vicini, ma di una immensa superficie che facilita, amplificandoli enormemente, scambi metabolici vasculoneurali di ioni o di molecole di piccole dimensioni.

Più di recente, tra le cellule gliali dell'ipotalamo e del nervo ottico del ratto adulto nonché della *neocortex* del feto di ratto sono state descritte *gap junctions* che costituiscono dispositivi di comunicazione facilitanti la diffusione simultanea di sostanze.

L'intervento della glia astrocitaria nella regolazione delle funzioni neuronali giustifica pienamente la recente formulazione del concetto *unità neurone-glia*. Questo implica una stretta reciproca influenza funzionale tra i due citotipi, i quali, mediante flussi bidirezionali regolati da un meccanismo di *feedback*, si scambiano sostanze che attraversano il microambiente neuronale, un insieme di spazi di 20-30 nm di ampiezza che separano neuroni e cellule gliali, modificandone la composizione a seconda delle modalità di trasferimento imposte dalla glia astrocitaria. Alcune sostanze utilizzate dai neuroni per i meccanismi trasmettitoriali vengono captate dagli astrociti, spesso rimaneggiate metabolicamente e poi liberate in aderenza alle esigenze neuronali. Altre sostanze implicate nei fenomeni della eccitabilità nervosa vengono scambiate tra glia e neuroni con modalità di trasporto tali da creare particolari equilibri omeostatici. Sostanze neurotossiche vengono captate e sequestrate dagli astrociti e sottratte pertanto al microambiente neuronale, altre ancora con proprietà neuronotrofiche o metabolicoenergetiche sono sintetizzate dalla glia astrocitaria e trasferite al microambiente neuronale in condizioni fisiologiche o in situazioni patologiche spontanee o sperimentali, per assicurare la sopravvivenza dei neuroni o la loro riparazione strutturale in occasione di un danno.

Vengono di seguito riferiti gli aspetti funzionali più interessanti di tali sostanze desunti da studi *in vivo*, condotti soprattutto con tecniche immunoistochimiche, e *in vitro*, su microcolture purificate di glia astrocitaria.



Digitized by Google

*Neurotrasmettitori e neuromodulatori*

1. *Aminoacidi.* – Studi *in vivo* e in colture primarie di astrociti dimostrano che queste cellule sono capaci di captare, accumulare e rilasciare alcuni aminoacidi utilizzati come neurotrasmettitori o neuromodulatori dai neuroni aminergici. In proposito, un sistema di captazione ad alta affinità per l'ac. glutammico, il principale neurotrasmettitore eccitatorio nel S.N.C. (v. NEUROTRASMETTITORI*), è stato dimostrato in cellule gliali isolate dalla corteccia cerebrale e in cellule gliali coltivate, provenienti da alcuni gliomi umani. Il glutammato si accumula negli astrociti e viene rilasciato da queste stesse cellule.

Lo studio del neurone glutammatergico ha assunto di recente una importanza capitale non solo erudittiva, ma anche clinico-pratica per le prospettive interessanti che il suo apprendimento dischiude nel campo della terapia di alcune sofferenze neuronali. Proprio nei confronti della regolazione metabolica di questo neurotrasmettitore, l'interazione neurone-glia assume un significato particolare.

Impiegando tecniche immunoistoenzimatiche è stato dimostrato nel cervello di ratto che l'enzima glutammico-sintetasi che converte il glutammato in glutammina è pressoché esclusivo delle cellule gliali mentre l'enzima glutamminasi è predominante nei neuroni. È stato proposto quindi che il ciclo glutammina-glutammato è condiviso dai due citotipi, nel senso che il glutammato, rilasciato dai neuroni glutammatergici è captato dalle cellule gliali ove è convertito in glutammina per azione della glutammino-sintetasi. La glutammina è rilasciata dalle cellule gliali e captata dal neurone glutammatergico che la riconverte, per l'azione della glutamminasi, in glutammato, disponibile per il riciclaggio. Questi studi suggeriscono pertanto che le cellule gliali modulano l'attività funzionale del neurone glutammatergico.

Inoltre, è frutto di acquisizione recentissima che gli astrociti possano propagare onde chimiche a lunga distanza in risposta ad un messaggero chimico. È stato dimostrato che cellule astrocitarie in risposta al glutammato liberano onde di ioni $Ca^{2+}$ che, a loro volta, stimolano gli astrociti vicini. La possibilità che si possa realizzare una trasmissione glutammergica in elementi astrocitari aggiunge una nuova dimensione al problema della trasmissione chimica dell'impulso nervoso nel S.N.C.

Sono stati dimostrati, inoltre, un sistema di captazione ad alta affinità, nonché capacità di accumulo e di rilascio per le cellule gliali nei confronti dell'*ac. γ-aminobutirrico (GABA)*, della *taurina*, della *glicina* e dell'*ac. aspartico*. Sotto questo aspetto gli astrociti influiscono sul trasporto di tali neurotrasmettitori.

Circa dieci anni or sono una nota Casa farmaceutica statunitense commercializzava un derivato sintetico del progesterone il quale esplicava attività ipnotica ed anestetica (idrossidione sodio succinato; Viadril®), attraverso un insolito meccanismo che venne precisato in seguito nel 1986 da Maiewska *et al.*, i quali dimostrarono che alcuni derivati degli steroidi come il 3-alfa-idrossi-5-alfa-diidroprogesterone influenzano considerevolmente la trasmissione GABA-ergica, modulando fisiologicamente lo ionoforo del cloro accoppiato al recettore GABA-A. Successive evidenze suggerirono che alcuni derivati progestinici liberati dalla corteccia surrenale in seguito a stress di varia natura, erano capaci di evocare un effetto ansiolitico centrale ascritto alla capacità di tali sostanze di legarsi allo stesso sito modulatorio allosterico per le benzodiazepine del recettore GABA-A. Nel 1989 Jung Testas *et al.*, dimostrarono che gli *oligodendrociti sono capaci di sintetizzare steroidi ex novo* a prescindere dalle fonti biosintetiche surrenaliche o gonadiche, che, se sperimentalmente soppresse, non inficiano l'accumulo di steroidi cerebrali, noti ormai come *neurosteroidi*. Ancor più recentemente si scopre che esistono anche recettori periferici per le benzodiazepine sulla membrana mitocondriale di cellule steroidogenetiche surrenaliche e testicolari e che la glia astrocitaria, capace di produrre neurosteroidi, possiede lo stesso tipo di recettori. Si potrebbe così ipotizzare che l'azione ansiolitica delle benzodiazepine è anche mediata dalle cellule gliali, mediante l'attivazione di questi speciali recettori gliali steroidogenetici, e la conseguente modulazione finale della trasmissione GABA-ergica.

2. *Purine* e *derivati*. – L'adenosina è intensamente accumulata negli astrociti che sono anche capaci di rilasciarla; recettori $A_1$ e $A_2$ per l'adenosina sono stati pure dimostrati su astrociti in coltura. L'adenosina esplica un'azione vasodilatatrice, ma assieme ad altri nucleotidi purinici può essere impiegata come neurotrasmettitore o neuromodulatore nei neuroni purinergici. Ciò lascia prevedere che il rilascio di adenosina dagli astrociti possa controllare indirettamente la mediazione purinergica dei rispettivi neuroni o che possa essere direttamente responsabile di un potente effetto vasodilatatore sul microcircolo cerebrale.

3. *Monoamine.* – L'impiego consecutivo della tecnica istochimica in fluorescenza di Falck per le monoamine e della tecnica di immunofluorescenza per la proteina acida gliofibrillare in colture primarie di astrociti, ha dimostrato che tali cellule gliali posseggono un sistema di captazione ad alta affinità per noradrenalina, dopamina e serotonina.

Inoltre, è stata documentata la presenza negli astrociti di recettori adrenergici soprattutto di tipo $B_1$, la cui stimolazione attiva la glicolisi e il rilascio della taurina, neurotrasmettitore inibitore. Il significato della captazione monoaminica da parte della glia astrocitaria non è conosciuto. È stato suggerito che l'accumulo monoaminico intragliale possa proteggere i neuroni da un eccesso di tali sostanze, anche in relazione all'azione di certi farmaci neurolettici.

*Substrati metabolici*

Alcune sostanze a basso peso molecolare si trovano accumulate nei mezzi di coltura della glia astrocitaria e possono essere utilizzate come supporti metabolici o substrati energetici (nutrienti) dei neuroni.

Evidenze sperimentali autorizzano a ritenere che il livello del *potassio* nel microambiente neuronale è regolato dalla glia il cui potenziale di membrana dipende dalla distribuzione intracellulare ed extracellulare di tale catione. Sono state dimostrate in proposito interazioni tra neuroni e astrociti nel realizzare l'omeostasi del potassio. L'attività neuronale, infatti, comporta un rilascio extracellulare del potassio e un suo accumulo nello spazio interstiziale. In tale situazione, la glia si depolarizza ripristinando i normali livelli di potassio. Ciò suggerisce che la glia protegga i neuroni da un eccessivo incremento del potassio extracellulare.

Altro catione presente nel microambiente neuronale è il *calcio*, che svolge un ruolo importante nel controllo di alcuni aspetti della funzione cellulare del S.N.C. (permeabilità di membrana, attivazione del secondo messaggero e delle proteinchinasi, regolazione del tono vascolare, rilascio di neurotrasmettitori) nonché in alcuni eventi patologici (ischemie).

In colture primarie di astrociti è stata evidenziata una captazione del calcio indotta da potassio, che viene abolita dalla nimodipina, un calcioantagonista. Dal momento che gli astrociti costituiscono una larga componente del volume cerebrale possono comportarsi come serbatoio di calcio e proteggere i neuroni dall'effetto neurotossico di questo catione nel corso di processi ischemici. Inoltre, l'osservazione che la nimodipina blocca la captazione del calcio da parte degli astrociti dimostra che queste cellule sono suscettibili di manipolazione farmacologica e possono rappresentare un potenziale bersaglio di farmaci.

Altra sostanza prodotta dalla glia che si accumula nelle colture astrogliali è il *piruvato*. La sua presenza indica che i neuroni prenatali sono incapaci di utilizzare il glicoso come fonte energetica. In colture di neuroni centrali di pollo è stato dimostrato che il piruvato può essere rimpiazzato da una proteina enzimatica purificata da eritrociti umani, la *catalasi*, che svolge funzioni neurotrofiche strettamente riconducibili alla sua attività perossidasica e

conseguentemente di *scavenger* di radicali liberi di ossigeno nel microambiente neuronale. È probabile, pertanto, che il piruvato limiti la produzione di perossidi e di radicali liberi dell'ossigeno, possibili responsabili di un danno della membrana neuronale in particolari situazioni.

*Fattori trofici*

Studi *in vitro* suggeriscono che la glia astrocitaria può produrre e rilasciare speciali proteine che garantiscono la maturazione, l'accrescimento e la sopravvivenza delle cellule gliali e dei neuroni.

Sono almeno quattro i fattori trofici che si rinvengono nei terreni di colture di astroglia:

a) AMF (*Astroglial Maturation Factor*; fattore di maturazione gliale di Lim e Mitsunobu). Sintetizzato dalle cellule gliali durante lo sviluppo, incrementa la concentrazione di cAMP e promuove la comparsa della proteina acida gliofilamentosa S-100, che organizza la comparsa dei filamenti intermedi del citoscheletro astrogliare;

b) AGF (*Astroglial Growth Factor*, di Monard). Stimola la differenziazione morfologica delle cellule di neuroblastoma e svolge un'azione neurite-promuovente dopo la nascita;

c) NGF (*Nerve Growth Factor* di Levi-Montalcini e Cohen). La sua attività stimolante e trofica ha come bersaglio i neuroni dei gangli simpatici periferici e quelli sensitivi gangliari delle radici dorsali. Come è stato dimostrato recentemente il NGF agisce anche a livello del S.N.C. su neuroni colinergici ascendenti del prosencefalo basale dei mammiferi, promuovendo la sopravvivenza dei neuroni colinergici della via setto-ippocampale danneggiati da lesioni sperimentali (v. anche NERVOSO TESSUTO*);

d) CNTF (*Ciliary Neurotrophic Factor*, di Barbin). Promuove lo sviluppo dei neuroni colinergici del ganglio ciliare di pollo.

È stato osservato di recente che forme purificate di CNTF influenzano altre popolazioni neuronali come i neuroni gangliari sensitivi delle radici dorsali, i neuroni gangliari simpatici ed i feocromociti surrenalici.

Fig. 1. Unità neurone-glia. (*Da Varon, modificata e ridisegnata*).

Studi sperimentali *in vivo* suffragano l'ipotesi che la glia astrocitaria possa sintetizzare e liberare fattori trofici. Lesioni meccaniche e chimiche indotte sperimentalmente su encefali di ratti producono nell'area danneggiata accumulo di fattori neuronotrofici che si associa ad intensa gliosi. L'incremento di cellule gliali supporta appunto l'ipotesi che esse rappresentino una fonte operante di fattori neuronotrofici, implicati nei fenomeni riparativi conseguenti alla lesione. Questo dato sperimentale conferma anche che i fattori neuronotrofici (v. NERVOSO TESSUTO) non limitano la loro azione esclusivamente al periodo prenatale su neuroni in sviluppo, ma la estendono anche alla vita postnatale su neuroni adulti, per assicurarne la sopravvivenza in situazioni fisiologiche o nel corso di eventi patologici. Un deficit trofico astrogliale, infatti, è chiamato in causa nel determinismo di lesioni neurodegenerative che caratterizzano l'invecchiamento cerebrale e alcune malattie croniche del sistema nervoso, ad es. la malattia di Alzheimer.

La fig. 1 riassume le principali interazioni nella unità neurone-glia, secondo le modalità fin qui esposte.

**Interazioni glia-sistema immunitario**

Numerosi dati recenti indicano che il S.N.C. e quello immunitario sono connessi, nel senso che il S.N.C. può influenzare le risposte immunitarie e, viceversa, gli immunociti possono condizionare l'attività dei neuroni. È stato visto di recente che le cellule microgliali, fagociti con funzione di spazzatura dei detriti neuronali, esprimono recettori per il frammento Fc delle immunoglobuline e contengono linfochine. Ciò rafforza ulteriormente l'idea che i mediatori del sistema immunitario possano avere effetti diretti sia sui neuroni che sulle cellule gliali.

**Bibliografia**

Bender A., Hertz L., *Neurochem. Res.*, 1986, **11**, 1507.
Bender A. S., Hertz L., *Astrocytic benzodiazepine receptors: Correlation, with a calcium channel and involvement in anxiety and convulsions*, in Norenberg M. D., Hertz L., Schousboe A. eds., *Biochemical Pathology of Astrocytes*, 1988, Alan R. Liss, New York, p. 599.
Bignami A., Dahl D., *J. Comp. Neurol.*, 1974, **153**, 27.
Bignami A., Dahl D., *J. Histochem. Cytochem.*, 1977, **25**, 466.
Henn F. A., Hamberger A., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1971, **68**, 2686.
Hertz L., *Astrocytes*, in Lajtha A. ed., *Handbook of Neurochemistry*, 2 ed., 1982, Plenum Press, New York, p. 319.
Hertz L., *Potassium as a signal in metabolic interactions between neurons and astrocytes*, in Grisar T., Franck G., Hertz L., Norton W. T., Sensenbrenner M., Woodbury D. M. eds., *Dynamic Properties of Glial Cells, Cellular and Molecular Aspects*, Pergamon Press, p. 215.
Hertz L., Schousboe A., *Role of astrocytes in compartmentation of amino acid and energy metabolism*, in Fedoroff S., Vernadakis A. eds., *Astrocytes*, 1986, Academic Press, New York, **2**, 179.
Hertz L., Schousboe A., *Metabolism of glutamate and glutamine in neurons and astrocytes in primary cultures*, in Kvamme E. ed., *Glutamine and Glutamate in Mammals*, 1988, CRC Press, Boca Raton, FL, **2**, 39.
Kettenmann H., Backus K. H., Schachner M., *GABA receptors*





Digitized by Google

*on cultured astrocytes*, in Kimelberg H. K. ed., *Glial Cell Receptors*, 1988 Raven Press Ltd., New York, p. 95.
Kimelberg H. K., *Catecholamine and serotonin uptake in astrocytes*, in Fedoroff S., Vernadaki S. A. eds., *Astrocytes: Biochemistry, Physiology and Pharmacology of Astrocytes*, 1986, Academic Press, Orlando, FL, **2**, 107.
Murphy S., Pearce B. R., *Neuroscience*, 1987, **22**, 381.
Orkand R. K., *Role of glial cells in the central of the neuronal microenvironment*, in Bottaini *et al.* eds., *Regulatory Mechanism of Neuron to Vessel Communication in the Brain*, 1989, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, p. 253.
Schousboe A., Larsson O. M., Krogsgaard-Larsen P., Drejer J., Hertz L., *Uptake and release processes for neurotransmitter amino acids in astrocytes*, in Norenberg M. D., Hertz L., Schousboe A. eds., *Biochemical Pathology of Astrocytes*, 1988a, Alan R. Liss, New York, p. 381.

VINCENZO TESSITORE

**NICARDIPINA**: V. NIFEDIPINA E ALTRI CALCIOBLOCCANTI*.

## NICOTINA

F. *nicotine*. - I. *nicotine*. - T. *Nikotin*. - S. *nicotina*.

SOMMARIO



### Introduzione

Alcaloide estratto dalle foglie di *Nicotiana tabacum* la nicotina è, accanto alla nornicotina, la lobelina, l'arecolina, l'atropina, la joscina, la muscarina, la fisostigmina, la pilocarpina e la tubocurarina, uno dei numerosi principi attivi presenti in un gruppo eterogeneo di estratti vegetali utilizzati da tempo immemorabile a scopo venatorio, edonistico, rituale o magico e caratterizzati, sul piano farmacologico, dalla capacità di interferire in modo diverso sulla trasmissione colinergica. All'attività biologica della n., di scarsa o comunque tuttora imprecisata utilità terapeutica, sono da ricondurre importanti acquisizioni di carattere fisiologico e farmacologico. La duplice azione stimolante e, a forti dosi, inibente sulla trasmissione gangliare (Langley, 1889) ha portato a distinguere gli effetti muscarinici (bloccati dalla atropina) da quelli nicotinici (bloccati da forti dosi di n.) dell'acetilcolina (Dale, 1914). La depressione da n. dei riflessi tendinei (Schweitzer e Wright, 1938) ha documentato l'esistenza di recettori nicotinici centrali localizzati nelle cellule di Renshaw (Eccles, 1958). La stimolazione da n. del plesso mienterico di Auerbach ha permesso di evidenziare l'esistenza di una trasmissione purinergica (Burnstock, 1966). Infine lo studio dell'organo elettrico di *torpedo* ha portato a caratterizzare e a isolare i primi recettori (nicotinici) dei mediatori della neurotrasmissione.

### Recettori nicotinici

Per definizione responsabili delle risposte degli organi effettori all'azione, prima attivante, poi paralizzante della n., questi recettori vengono classicamente distinti in tre categorie in base alle loro risposte ad agonisti e antagonisti: *recettori gangliari* (stimolati da dimetilfenilpiperazinio e bloccati da esametonio); *recettori neuromuscolari* (attivati da feniltrimetilammonio e bloccati da decametonio) e *recettori centrali* (attivati da carbacol e bloccati da mecamilamina), tutti sensibili all'azione attivante dell'acetilcolina e a quella bloccante della D-tubocurarina. L'azione inibente sui recettori centrali della mecamilamina (un bloccante gangliare che, al contrario dell'esametonio, supera la barriera ematoencefalica) documenta le strette relazioni fra recettori nicotinici centrali e gangliari. Sul glomo carotideo e su quello aortico e su diverse terminazioni nervose afferenti localizzate nei polmoni e nei vasi periferici la n. esercita un'azione stimolante bloccata dall'esametonio. La funzione di questi recettori è poco chiara: le risposte agli stimoli fisiologici (anossia, acidosi) non vengono infatti modificate dal blocco dei recettori nicotinici presenti nei chemocettori del glomo.

Il recettore nicotinico si identifica con una proteina di membrana composta da cinque subunità nel tessuto muscolare e da cinque, o forse quattro, subunità in quello centrale. Le diverse subunità, inizialmente denominate con criteri disomogenei, vengono attualmente distinte in subunità regolatrici, dotate di un sito di legame per l'acetilcolina e in subunità strutturali che ne sono prive. Al primo gruppo appartengono la subunità α-1 del recettore muscolare e quelle α-2, α-3, α-4 (precedentemente indicate genericamente con β) del recettore centrale; al secondo gruppo appartengono le subunità β, γ, δ, e del recettore muscolare e quelle «non α» (precedentemente denominate α o $\beta_2$ o $\gamma_2$) del recettore centrale. Il pentamero del recettore muscolare ha una stechiometria $(\alpha\text{-}1)_2\ \beta\gamma\delta$ nel muscolo embrionale o denervato e $(\alpha\text{-}1)_2\ \beta\varepsilon\delta$ nel muscolo adulto (le subunità γ e ε si distinguono dalle altre per una omologia molto più elevata). Il pentamero (o tetramero) del recettore centrale risulta dalla combinazione di due subunità α-2 o α-3 o α-4 e di tre (o due) subunità non α. Il sequenziamento delle diverse subunità ne ha messo in evidenza i siti di riconoscimento dell'acetilcolina (coppia di residui cisteinici) responsabili dell'apertura del canale ionico e quelli risultanti da sequenze di aminoacidi non polari e quindi identificati come segmenti transmembrana ($M_1$, $M_2$ e $M_3$) che costituirebbero il canale cationico. Sul segmento $M_2$ sarebbe localizzato un sito di legame capace di reagire con gli anestetici locali e con gli stessi agonisti specifici portando il recettore in uno stato di desensibilizzazione.

L'esistenza di un doppio sito di legame per gli agonisti (uno attivante e l'altro inattivante) con diversa affinità per i vari agonisti spiegherebbe la diversa efficacia con cui questi ultimi agirebbero sul recettore nicotinico. Su questa base si distinguono agonisti puri (acetilcolina, carbacol, suberilcolina) con massima affinità per il sito di attivazione, agonisti parziali (n., feniltrimetilammonio, decametonio) con affinità crescente per il sito inattivante e antagonisti puri (mecamilamina e altri bloccanti gangliari) che inattivano il canale senza inibire il legame fra agonisti e sito attivante.

Le subunità regolatrici e strutturali sono entrambe indispensabili alla funzione del sistema recettoriale come canale cationico regolato dall'acetilcolina. Esperienze di *patch-clamp* hanno messo in evidenza la presenza di canali funzionanti in uova di *Xenopus levis* solo nel caso in cui queste fossero state ibridate con cloni di mRNA codificanti per le subunità regolatrici e per quelle strutturali.

Studi di ibridazione *in vivo* hanno messo in evidenza una diversa distribuzione centrale delle varie subunità che compongono il complesso recettoriale nicotinico. A queste diversità di carattere molecolare non è attualmente possibile assegnare un significato funzionale. Recettori nicotinici, identificati con ligandi specifici ($^3$H nicotina, $^3$H acetilcolina in presenza di atropina e, per i recettori muscolari, $^{125}$I α bungarotossina) sono stati localizzati, oltre che nelle placche motrici e nei gangli, anche nel midollo spinale e nell'encefalo. In questa sede, il complesso nucleare basale colinergico del cervello anteriore (con proiezioni corticali, telencefaliche, diencefaliche e mesencefaliche) e il sistema colinergico tegmentale mesopontino (con proiezioni talamiche ed extrapiramidali) sono caratterizzati da una elevata densità di siti di legame nicotinici. Il loro significato





Digitized by Google

funzionale è documentato dalla coincidenza delle mappe recettoriali nicotiniche con quelle che evidenziano le vie nervose attivate dalla n. mediante la misura del metabolismo regionale cerebrale di glicosio. Distinti in recettori ad alta e bassa affinità (Kd rispettivamente di 1-10 n*M* e maggiore di 100 n*M*), i primi appaiono coinvolti negli adattamenti recettoriali che accompagnano i fenomeni di tolleranza e in quei processi comportamentali nei quali la n. agisce come stimolo discriminativo (v. sotto).

Accanto alla classica localizzazione postsinaptica dei recettori nicotinici, studi su sinaptosomi striatali e ippocampali hanno confermato i dati morfologici sull'esistenza di recettori nicotinici presinaptici. All'attivazione dei primi è da riferirsi la depolarizzazione per apertura dei canali cationici con aumento del $Ca^{2+}$ intracellulare e stimolazione delle cellule effettrici (neuroni colinergici, dopaminergici e forse anche purinergici dei già nominati sistemi encefalici, cellule neurosecretrici ipotalamiche e tubero-infundibolari). L'attivazione dei recettori presinaptici si traduce nella facilitazione della liberazione dei mediatori propri delle terminazioni su cui sono localizzati questi recettori: la natura colinergica, dopaminergica, noradrenergica, serotoninergica, GABAergica o glutamminergica di queste terminazioni è ben documentata.

**Effetti farmacologici**

*Nell'animale da esperimento*

La molteplicità dei punti di attacco della n. spiega l'ampia gamma di meccanismi con cui gli effetti stimolanti o inibenti della n. possono tradursi nelle azioni che l'alcaloide esercita nell'organismo integro. In questa ampia gamma, gli studi sperimentali hanno individuato nei meccanismi centrali quelli che, per essere attivati dalle dosi più contenute di n., svolgono un ruolo preponderante.

Sul sistema cardiovascolare prevalgono a queste dosi gli effetti tachicardizzanti e ipertensivi legati in primo luogo alla stimolazione dei centri vasomotori bulbari da azione in parte diretta, in parte mediata dall'attivazione dei chemocettori carotidei e aortici e, in secondo luogo, alla stimolazione gangliare che si estrinseca in senso ipertensivo per il peso prevalente che il simpatico riveste nel controllo nervoso del sistema vascolare. Transitori effetti vagali (ipotensione, bradicardia) si possono osservare in risposta all'iniezione e. v. rapida di n.: associati a un fugace arresto respiratorio, essi hanno i caratteri del riflesso di Bezold-Jarisch che segue la stimolazione di alcuni meccanocettori polmonari. Solo con dosi prossime a quelle tossiche si osserva duratura ipotensione riferibile sia a blocco gangliare che a depressione centrale.

Sul sistema respiratorio l'effetto più evidente è la tachipnea che, al pari della risposta ipertensiva, è dovuta a stimolazione centrale in parte diretta in parte mediata attraverso i chemocettori; la stimolazione gangliare si traduce in una ipersecrezione bronchiale per il prevalere a questo livello del controllo vagale.

Sull'apparato gastrointestinale, ove è pure dominante il controllo parasimpatico, la n. esercita azione eccitosecretoria e peristaltica, mentre i suoi effetti emetici sono da ricondursi alla stimolazione delle zone chemocettrici bulbari che attivano i centri del vomito.

Sul sistema muscolare gli effetti di stimolazione sulle placche motrici si osservano solo negli uccelli e nel muscolo denervato dei mammiferi, mentre gli effetti paralizzanti compaiono solo dopo ripetute somministrazioni di dosi elevate. A effetti centrali sono da ricondursi l'attenuazione dei riflessi spinali e, nel quadro dei fenomeni tossici, gli effetti convulsivi delle dosi elevate di n.

Gli effetti della n. sulle più complesse funzioni del S.N.C. coinvolgono meccanismi non facilmente schematizzabili data l'estrema varietà dei criteri di sviluppo e di valutazione dei modelli sperimentali adottati, le diverse modalità di somministrazione della n. e, ancor più, la molteplicità dei sistemi neurochimici che l'alcaloide stimola, desensibilizza o inattiva. Questo è già evidente nell'azione della n. sull'attività spontanea dei roditori. In termini semplificati, ma ampiamente accettati, dosi inferiori a 0,1 mg/kg s.c. stimolano i movimenti di deambulazione, mentre a dosi superiori l'effetto stimolante è preceduto da una fase di depressione. Solo l'attività deprimente è soggetta a fenomeni di tolleranza: di conseguenza la ripetizione della somministrazione di n. (a intervalli di ore ma anche di giorni) fa emergere un'attività puramente stimolante anche per le dosi dell'alcaloide che si considerano elevate. D'altra parte, non sempre un aumento dell'attività spontanea deve riferirsi a un'azione stimolante della n.: dosi dell'alcaloide inferiori a quelle che risultano stimolanti in condizioni ambientali normali attenuano la ridotta mobilità del ratto posto in ambienti avversivi; più che a un'attività stimolante questo effetto viene attribuito a un'azione «ansiolitica» dell'alcaloide.

Sul comportamento operante condizionato e finalizzato sia all'evitamento di punizioni (rinforzi negativi), che all'ottenimento di ricompense (rinforzi positivi) la n. esercita nei roditori, ma anche in altre specie (gatti, cani, scimmie scoiattolo), effetti che dipendono dalla dose somministrata, dall'intervallo fra iniezione e osservazione e dal livello dell'attività operante di controllo. Quando tale livello è elevato, gli effetti immediati di una forte dose di n. sono deprimenti e possono associarsi ad atassia. Le osservazioni condotte a maggiore distanza di tempo dall'iniezione, l'uso di dosi modeste (0,05 mg/kg s.c.) e l'esistenza di bassi livelli di attività in fase di controllo mettono in evidenza un effetto stimolante. Al pari di quanto osservato sull'attività spontanea, gli effetti deprimenti si attenuano con la ripetizione delle somministrazioni, favorendo la comparsa di quelli stimolanti con evidenti rapporti di dose-dipendenza. L'origine centrale di questi effetti è sostenuta dal fatto che, fra i bloccanti gangliari, solo la mecamilamina inibisce la azione della n. sui diversi paradigmi di comportamento operante, azione che tuttavia coinvolge meccanismi non sempre bene individuati.

Nei paradigmi che introducono componenti punitive o situazioni avversive le azioni della n. sono la risultante dei diversi equilibri che possono stabilirsi fra la stimolazione dell'attività motoria, l'attivazione di processi finalizzati all'evitamento delle punizioni e l'attenuazione dei fenomeni di ansia.

La possibilità di indurre nel ratto comportamenti condizionati alla somministrazione di n. documenta l'attività dell'alcaloide quale stimolo discriminativo o, in altre parole, la capacità dell'animale di percepire gli effetti della n. sul suo «stato interno».

Le modifiche di stato interno prodotte dalla n. possono anche avere funzioni di stimolo incondizionato sia con carattere di ricompensa che con carattere di punizione. Per quel che riguarda la prima possibilità, le valenze edoniche degli effetti centrali della n. si deducono dalla possibilità di indurre con la sua somministrazione sia una *conditioned place preference* (il ratto impara a preferire fra gli ambienti ai quali può accedere quello ove, in fase di addestramento, veniva introdotto dopo la somministrazione di n.), sia un processo di autosomministrazione volontaria dell'alcaloide (per via e. v. o orale) in diverse specie animali. In paragone con i più tipici agenti farmacologici di rinforzo positivo (cocaina, anfetamina), l'autosomministrazione di n. è un fe-



Digitized by Google

nomeno più debole che si sviluppa più lentamente e dipende anche dall'associazione fra stimolo di rinforzo e altre componenti, non chiaramente identificate, dei paradigmi sperimentali. Fra queste, l'esistenza di uno stato di ansia gioca un ruolo significativo: nella scimmia scoiattolo, l'esposizione a shock non segnalati aumenta marcatamente il consumo orale di soluzioni di n., consumo che, in assenza di shock, è notevolmente minore di quello di acqua.

Sul comportamento aggressivo la n. in dosi modeste e paragonabili a quelle che vengono assunte col fumo di una sigaretta (25 μg/kg) ha un effetto deprimente che si evidenzia anche a dosi maggiori. Solo dosi superiori a 0,4 mg/kg hanno un effetto totalmente disorganizzante sull'aggressività. Questi effetti della n., che vengono antagonizzati dalla mecamilamina, sostengono l'esistenza di un antagonismo fra sistema nicotinico e sistema muscarinico centrale: infatti agonisti muscarinici e inibitori della colinesterasi iniettati nell'encefalo attivano una via corteccia-amigdala-ipotalamo-sostanza grigia centrale-tegmento centrale mesencefalico che stimola i comportamenti aggressivi.

L'azione ipodipsica e ipofagica, esercitata dalla n. nei ratti, viene antagonizzata dalla mecamilamina e tende ad attenuarsi con le somministrazioni ripetute; nei trattamenti cronici, benché l'assunzione di cibo non risulti ridotta, si verifica una perdita di peso corporeo imputata a non precisati effetti ormonali e metabolici.

*Interazioni tra sistema nicotinico e altri sistemi recettoriali*
La natura centrale delle azioni nicotiniche è ritenuta provata dall'inibizione che la sola mecamilamina, fra i diversi bloccanti gangliari iniettati per via sistemica, esercita su di essa: per definizione dunque i meccanismi neurorecettoriali primitivamente coinvolti negli effetti centrali della n. sono di natura colinergica. Ma la localizzazione dei recettori nicotinici sul corpo cellulare e sulle terminazioni di una vasta gamma di neuroni, la cui attivazione porta a liberazione di mediatori diversi, spiega la molteplicità dei sistemi neurorecettoriali chiamati in causa dall'attivazione dei recettori nicotinici centrali.

Fra questi sistemi entra certamente in gioco quello colinergico di tipo muscarinico: lo provano l'aumentata liberazione corticale di acetilcolina indotta dalla n., il parallelismo fra questa liberazione e l'attivazione elettroencefalografica e, soprattutto, la sensibilità di quest'ultima e di altri effetti della n. (fra questi quello antinocicettivo) all'azione antagonista della scopolamina. Effetti opposti esercitano la n. da un lato e la scopolamina dall'altro sul comportamento operante e su diversi aspetti dell'apprendimento e della memoria. Tuttavia, attivazione nicotinica e muscarinica non sono sempre equivalenti: parlano in questo senso opposti effetti di agonisti nicotinici e muscarinici sull'aggressività (v. sopra).

Mentre rimane aperto il problema delle interazioni fra il sistema colinergico muscarinico e quello dopaminergico, esistono chiari rapporti fra sistema colinergico nicotinico e dopaminergico: lo documentano la coincidenza della mappatura dei recettori dopaminici e nicotinici centrali e l'aumento dell'attività elettrica, della liberazione e del ricambio di dopamina a livello del sistema nigrostriatale e mesolimbico indotti dalla n.; lo dimostrano infine la capacità della dopamina di sostituirsi alla n. nei test in cui quest'ultima agisce come stimolo discriminativo e l'attenuazione che gli inibitori dopaminici o l'inattivazione del sistema nigrostriatale mesolimbico inducono sull'autosomministrazione di n., sui suoi effetti stimolanti la locomozione e sulla *conditioned place preference* da n.

Meno conclusive sono le evidenze a sostegno dell'intervento di altri sistemi neurorecettoriali nella mediazione o nella modulazione degli effetti centrali della n. Il sistema purinergico sembra esercitare un'azione moderatrice sugli effetti centrali della n.; la depressione del sistema serotoninergico centrale indotta dalla n. potrebbe spiegare gli effetti ansiolitici dell'alcaloide (v. sopra); infine, la stimolazione nicotinica dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene attiverebbe un *feedback* negativo con effetti moderatori su diverse azioni centrali della n. La n. stimola la liberazione di altri fattori neuroendocrini (prolattina, peptidi oppioidi) con conseguenze funzionali non precisate.

*Effetti farmacologici nell'uomo*
Dosi di n. di 0,01-0,03 mg/kg e. v., che portano ai livelli ematici riscontrabili nei fumatori abituali (intorno ai 30 μg/ml nelle ore pomeridiane) esercitano nell'uomo effetti paragonabili, almeno nell'ambito delle risposte neurovegetative e motorie che più si prestano a questo confronto, a quelle indotte nell'animale da esperimento da dosi contenute dell'alcaloide (nel ratto 0,1 mg/kg s.c. porta a simili livelli ematici). Tipiche, anche se modeste, le risposte cardiovascolari riferibili ad attivazione simpatica: tachicardia, ipertensione, aumento della gittata cardiaca, del flusso coronarico e muscolare, riduzione della temperatura cutanea da vasocostrizione, aumento delle catecolamine e degli acidi grassi liberi circolanti. Nel quadro degli effetti di queste dosi rientrano l'ipersecrezione salivare, la depressione del riflesso patellare e la riduzione del tono di alcuni, ma non di tutti, i muscoli scheletrici (l'elettromiografia del muscolo trapezio ha evidenziato un aumento del tono). La nausea e il vomito, il marcato aumento dei livelli ematici di ACTH, cortisolo e β-endorfine si osservano a dosi più elevate o sono aspecificamente riferibili allo stress indotto dalle situazioni sperimentali adottate.

Sulle più complesse funzioni del sistema nervoso la n. esercita effetti che sono stati obiettivati sia in fumatori che in non fumatori, utilizzando diverse vie di somministrazione (inalatoria, transdermica, nasale, sublinguale, parenterale). L'influenza sui processi di memorizzazione si evidenzia con il facilitato ingresso in memoria di informazioni codificabili in termini fonemici, semantici ma anche immaginativi (ideogrammi cinesi) e con la capacità di determinare un apprendimento «stato-dipendente» (il richiamo di una informazione immessa in memoria sotto l'influenza della n. viene facilitato dall'assunzione dell'alcaloide). Gli effetti favorenti la vigilanza e l'attenzione si evidenziano con il miglioramento dell'esecuzione di esercizi che richiedono rapida elaborazione di segnali visivi o uditivi; di esercizi a carattere ripetitivo che portano a caduta dell'attenzione con aumento degli errori; infine di quelli che valutano l'influenza di stimoli capaci di distrarre il soggetto.

La registrazione di alcune componenti dei potenziali elettrici cerebrali evocati dagli eventi (ERP: *event related potentials*) è compatibile con l'azione facilitante che la n. esercita sulla capacità dell'individuo a concentrarsi sulle componenti utili dell'informazione e sulla loro elaborazione. Risultano d'altra parte attenuate le reazioni elettrodermiche considerate marcatrici del disagio e dello sforzo che accompagnano i test ripetitivi di comportamento operante. Nelle prove di pura agilità motoria (misura della massima frequenza con cui il soggetto riesce ad azionare il tasto di un computer) la n. esercita azione favorente sia nei fumatori che nei non fumatori; tuttavia l'esecuzione di alcuni test psicometrici che coinvolgono componenti motorie viene migliorata dalla n. solo nei fumatori.

Fenomeni subtossici e tossici si sono osservati negli addetti alla coltivazione e alla manifattura del tabacco in con-



Digitized by Google

seguenza dell'assorbimento percutaneo di n. I sintomi più comuni (nausea, vomito, pallore, debolezza, capogiri, cefalea e sudorazione) si associano più raramente a scialorrea, a diarrea e a coliche addominali. Nelle forme più gravi (da ingestione di pesticidi a base di n.; la dose letale nell'uomo si aggira sui 60 mg) questi sintomi evolvono verso il collasso cardiovascolare e la perdita di coscienza con convulsioni terminali. La terapia si basa su interventi rianimativi di sostegno del circolo e del respiro e sull'allontanamento dei materiali ingeriti mediante lavaggio gastrico (evitando l'uso di soluzioni alcaline che facilitano l'assorbimento) associato a somministrazione di adsorbenti.

**Desensibilizzazione, tolleranza, dipendenza**

La somministrazione cronica di n. nell'animale da esperimento, sia per infusione continua sia, e con maggiore evidenza, per iniezioni ripetute, porta a riduzione e talora a scomparsa di alcune delle azioni fin qui descritte della n. In questo processo di *desensibilizzazione* si distinguono componenti rapide (tachifilassi) che si sviluppano dopo una o poche somministrazioni e regrediscono nel corso di alcune ore o di pochi giorni (azione antinocicettiva) e componenti lente (inattivazione) che, pur instaurandosi con una discreta rapidità, persistono a lungo dopo la sospensione del trattamento (tolleranza all'azione deprimente della n. può persistere oltre i due mesi). Responsabile della tachifilassi sembra essere un blocco, una «ostruzione» del canale ionico con cui si identifica il recettore nicotinico, ostruzione che porterebbe, in una seconda fase, a una stabile inattivazione del recettore (inattivazione allosterica in quanto l'accessibilità per la n. del sito di legame risulta conservata). In qualche modo legato a questa inattivazione è l'aumento del numero di recettori nicotinici, che potrebbe considerarsi una *up regulation* con finalità compensatorie praticamente vanificata dalla continua somministrazione dell'alcaloide. In realtà i rapporti fra desensibilizzazione e *up regulation* recettoriale non sono chiari: alla sospensione del trattamento la regressione dei due fenomeni ha un andamento temporale diverso.

Riguardo ai fenomeni di *tolleranza* cosiddetta crociata, il trattamento cronico con n. o con etanolo induce nel ratto una tolleranza agli effetti deprimenti che l'etanolo o, rispettivamente, la n. esercitano sull'attività spontanea, la coordinazione motoria e la temperatura corporea.

L'instaurarsi di uno stato di *dipendenza* in conseguenza della somministrazione cronica di n., implicito nei già descritti fenomeni di autosomministrazione, è obiettivato dai fenomeni di astinenza che seguono la sospensione di un trattamento protratto. Essi si manifestano con la transitoria ricomparsa di quegli effetti nicotinici per i quali l'animale era divenuto tollerante (azione antinocicettiva) e, viceversa, con la caduta al disotto dei livelli pre-nicotina di quelle prestazioni (attività spontanea, comportamento operante) sulle quali la n. esercitava effetti stimolanti resistenti alla tolleranza. I segni di astinenza, al pari dei fenomeni di autosomministrazione, sono meno evidenti e meno facili a instaurarsi in paragone a quanto avviene per le cosiddette droghe pesanti. Alcuni fenomeni di astinenza si evidenziano solo quando il trattamento cronico con n. si accompagna a situazioni di stress (test di *avoidance* non segnalata; immobilizzazione finalizzata all'esposizione a fumo di tabacco).

Tutti questi fenomeni trovano chiari equivalenti nell'uomo. La rapida scomparsa della nausea, del senso di vertigine, del vomito che accompagnano le prime esperienze dei fumatori è espressione di una desensibilizzazione che è stata obiettivata e quantificata con lo studio della risposta tachicardica a infusioni ripetute di n.: l'applicazione della modellistica cinetica a questi dati valuta in 90 min il tempo necessario, sia per il raggiungimento di una desensibilizzazione massima (riduzione del 75-80% degli effetti iniziali) sia per il ritorno alla normale reattività dopo la sospensione dell'infusione. Ai fenomeni di tolleranza crociata con l'etanolo può ricondursi la constatata associazione di un passato etilismo cronico a un persistente pesante ricorso al fumo. Stati di ansia, irritabilità, incapacità a concentrarsi, sonnolenza, senso di fame, ossessivo desiderio del fumo caratterizzano una sindrome di astinenza che può prolungarsi anche per settimane: essa trova obiettivazione in un rallentamento del tracciato elettroencefalografico (riduzione dei ritmi $\alpha$ e aumento di quelli $\tau$) che può esser corretto con la somministrazione di n. (v. anche TABAGISMO).

**Farmacocinetica**

L'assorbimento della n. è rapido ed elevato attraverso l'albero bronchiale, la cute, la mucosa nasale e quella orale e il tratto intestinale, mentre è scarso a livello gastrico ove, per il basso pH, la n. (base relativamente forte) è largamente ionizzata e quindi poco assorbibile. Il picco ematico viene più rapidamente raggiunto con l'assorbimento per via polmonare nei confronti di quella orale o nasale. Livelli plasmatici equivalenti a quelli indotti dal fumo di una sigaretta vengono raggiunti con l'assunzione nasale di 2-3 g di tabacco da fiuto e di 7-8 g di tabacco da masticare; valori ematici più bassi si ottengono con le gomme da masticare contenenti 4 mg di n. L'emivita plasmatica della n. oscilla fra le 2 e le 4 h.

Eliminata come tale per via renale in proporzione variabile dal 2 al 35% della dose assunta (l'escrezione renale è favorita dall'acidificazione delle urine), la n. viene metabolizzata a livello epatico con prevalente formazione di derivati inattivi ossidati nel carbonio $\alpha$ o nell'azoto dell'anello pirrolidinico (cotinina e N ossido di n.); fra i metaboliti minori la nornicotina è l'unica a conservare una certa attività biologica. La cotinina, per la sua lunga emivita (16-20 h) viene utilizzata, insieme al suo metabolita più abbondantemente presente nelle urine (la 3' idrossicotinina), come marcatore della esposizione alla n.

Con l'assorbimento per via respiratoria la n. raggiunge il cervello più rapidamente di quanto non avvenga con la somministrazione per via e. v. Insieme al più rapido istituirsi del picco ematico, questo può spiegare il fatto che alcuni degli effetti centrali della n. assunta con il fumo di tabacco non si osservano con la somministrazione orale (gomma da masticare) benché in entrambi i casi vengano raggiunti equivalenti livelli ematici. Non sono note le concentrazioni cerebrali di n. nell'uomo; nei roditori trattati per via s.c. i livelli cerebrali sono 4 volte superiori a quelli plasmatici. La n. attraversa facilmente la barriera placentare ed è presente nel latte di madri fumatrici.

**Effetti prenatali**

Ampiamente studiato nel ratto, il trattamento di femmine gravide, in genere durante l'intero periodo della gravidanza, si traduce innanzitutto in una riduzione del numero dei nati anche nel caso di infusioni continue (con minipompe osmotiche) che evitano gli effetti tossici da ischemia nel circolo materno-fetale indotti dai bruschi aumenti dei livelli ematici che seguono l'iniezione dell'alcaloide.

A differenza di quanto avviene per la maggior parte delle sostanze che influenzano lo sviluppo fetale e neonatale, la n. agisce in modo elettivo sul S.N.C. Una significativa riduzione del DNA cerebrale, indice di una inibita replicazione neuronale, si evidenzia nelle diverse aree cerebrali in coincidenza delle fasi che ne segnano il più intenso sviluppo: evidente quindi già in epoca intrauterina nelle zone a più precoce sviluppo (asse cerebrale) essa si manifesta solo in fase postnatale in quelle a sviluppo più tardivo (cervelletto) e presenta caratteristiche temporali intermedie a livello della corteccia cerebrale. A queste anomalie fa se-





Digitized by Google

guito una estesa disorganizzazione temporale e spaziale delle variazioni di quegli indici biochimici (ornitina-decarbossilasi) che accompagnano i processi maturativi.

Sul piano neurochimico, effetti duraturi del trattamento prenatale riguardano il sistema catecolaminergico centrale (riduzione dei siti di legame con aumento della loro affinità per la dopamina, ridotta utilizzazione dei neurotrasmettitori adrenergici con ridotta concentrazione dei loro metaboliti). Nei riguardi dei recettori nicotinici, l'aumento del loro numero che nell'adulto accompagna i fenomeni di inattivazione (v. sopra) persiste per lungo tempo in fase postnatale, specie a livello cerebellare.

Sul piano ormonale, nei ratti esposti alla n. in periodo prenatale, non si osserva l'aumento di LH circolante che, all'età di 30 giorni, segnala lo sviluppo puberale. A una aumentata attività dell'asse ipofiso-surrenale è stato attribuito l'accelerato sviluppo muscolare scheletrico che si evidenzia con un aumento della forza e della velocità di contrazione e che persiste fino a due settimane dopo la nascita nei ratti esposti alla n. soprattutto in quella fase dello sviluppo intrauterino che precede l'innervazione del muscolo scheletrico.

In epoca post-natale immediatamente successiva a quella caratterizzata da un precoce sviluppo muscolare è stata evidenziata una iperattività motoria spontanea (in alcuni studi documentata solo nei maschi) che, per essere antagonizzata dall'anfetamina, è stata considerata un equivalente sperimentale almeno parziale della discussa sindrome infantile del deficit di attenzione (*attention deficit disorder*) che comprende iperattività involontaria, irrequietezza, scarsa capacità di attenzione e disturbi della sfera percettiva e cognitiva. Questa sindrome è stata più frequentemente riscontrata nei nati da madri che fumavano più di 20 sigarette al giorno.

I possibili effetti prenatali della n. nell'uomo vengono ovviamente dedotti da studi epidemiologici che segnalano una minore fertilità e una maggior fequenza di aborti spontanei nelle donne fumatrici e, nella loro prole, un ridotto peso alla nascita e una più elevata mortalità perinatale, mentre sembra essere assente una vera e propria azione teratogena.

**Nicotina e tabagismo**

La n. è il principale fattore responsabile dell'uso voluttuario del tabacco. Nei fumatori con libero accesso al tipo di sigarette a loro abituale, l'assunzione di n. (valutata in base ai livelli ematici di n. o di cotinina) è scarsamente correlata alla resa in n. di ogni singola sigaretta (valutata con apposite macchine): di conseguenza il passaggio all'uso di sigarette a più bassa resa di n. si traduce in un aumento del numero di sigarette fumate, mentre l'imposizione di una riduzione del numero di sigarette del tipo abituale si accompagna a modificazioni della modalità con cui queste vengono fumate, al fine di aumentare la quantità di n. assunta per ogni singola sigaretta. L'infusione e.v. di n. ha spesso ridotto il numero di sigarette fumate, mentre l'effetto opposto si è osservato con l'acidificazione urinaria che aumenta l'escrezione renale di n.

Gli effetti psicoattivi della n., in particolare la sua capacità di agire come stimolo di rinforzo, i fenomeni di tolleranza e di astinenza che ne accompagnano l'abituale assunzione e, rispettivamente, la sua brusca soppressione, giustificano l'inclusione della n. fra le sostanze di abuso, anche se con caratteri più sfumati di quelli delle classiche droghe pesanti. La storia naturale del tabagismo inizia con una fase di reclutamento condizionata da fattori psicosociali, cui fa seguito una cronicizzazione del ricorso al fumo nella quale giocano un ruolo la desensibilizzazione agli effetti spiacevoli della n., l'apprendimento di un adeguato modo di fumare e forse anche una selezione fra individui più o meno proni all'abuso (ma non esistono prove che documentino differenze fra fumatori e non fumatori nella reattività alla n. o nella sua cinetica). Nella successiva fase della dipendenza si tendono a distinguere un livello meno severo nel quale le motivazioni psicosociali del reclutamento mantengono un ruolo prevalente, un livello intermedio caratterizzato dall'entrata in gioco di un rinforzo positivo esercitato da sensazioni di appagamento (diminuzione dell'ansietà e della tensione, miglioramento dell'umore, aumento delle capacità di concentrazione, di attenzione, di attività psicomotoria, diminuzione del peso corporeo) e un livello più avanzato in cui il ricorso al fumo trova ragione nel rinforzo negativo esercitato dall'esigenza di evitare le sensazioni spiacevoli dell'astinenza che si manifestano anche dopo una transitoria interruzione del ricorso al fumo (nel riposo notturno).

In un quadro meno schematico i fattori di rinforzo positivo e negativo non entrano in gioco in fasi successive e distinte della storia naturale del tabagismo, ma coesistono in un «modello di confine» (*boundary model*) nel quale il fumatore tende a non superare i livelli oltre i quali la n. ha effetti avversivi e a non scendere al disotto di quelli che lasciano apparire i fenomeni di astinenza. D'altra parte si sta affinando l'analisi dei fattori psicosociali che concorrono allo sviluppo e al mantenimento del tabagismo: per es. sembra che, anche in assenza di un vero e proprio effetto ansiolitico, il fumo di tabacco riesca a favorire il controllo di risposte che potrebbero avere conseguenze negative per il soggetto, come quelle aggressive nei confronti dei circostanti in situazioni frustranti di vita o di lavoro.

La classica dipendenza che si crea nei confronti del fumo e l'altrettanto evidente legame che esiste fra tabagismo e patologia polmonare, cardiovascolare e prenatale (il ruolo della n., significativo nelle ultime due e più problematico nella prima, non può agevolmente esser distinto da quello svolto dalle più di 3000 sostanze presenti nel fumo di tabacco) spiegano la necessità, ma anche la difficoltà, degli interventi di disassuefazione dal tabagismo. Fra i molti agenti farmacologici utilizzati in questi interventi (clonidina, benzodiazepine, antidepressivi, mecamilamina, betabloccanti, corticotropina, anticolinergici, n.), la somministrazione in dosi progressivamente ridotte di n. con gomme da masticare ha la base più razionale, ma ha portato a risultati variabili, talora nulli, talora con percentuali di successo prossime al 50%. Analoghi risultati si sono avuti con la clonidina, mentre scarsi sono i dati riguardanti l'impiego degli altri prodotti. È comunque indubbio che il sostegno psicologico può notevolmente migliorare i risultati di un trattamento farmacologico.

V. anche: TABAGISMO (XIV, 1749); TABAGISMO*.

**Aspetti farmacoterapeutici**

Per quanto siano evidenti le interazioni fra fumo e numerosi farmaci (in particolare i teofillinici vedono ridotta fino al 50% la loro attività nei fumatori) non vi sono prove che attribuiscann alla n. questi fenomeni.

Se gli aspetti negativi del tabagismo sono ben riconosciuti, più labili sono le evidenze a sostegno dei possibili effetti favorevoli della n. e, di riflesso, del fumo. Dati sperimentali hanno documentato un'azione protettiva della n. nei confronti delle alterazioni del sistema dopaminergico dei nuclei della base indotte dall'emisezione delle vie nigrostriatali o dalla somministrazione di MPTP (1-metil-4-fenil-1, 2, 3, 6-tetraidropiridina) che riproduce le lesioni e i sintomi della malattia di Parkinson (v. NEUROTOSSINE, *MPTP*; PARKINSON, MORBO DI*). Poco convincenti sono tuttavia le evidenze che sostengono una ridotta incidenza di questa malattia nei fumatori.





Digitized by Google

La compromissione del sistema di proiezioni colinergiche alla corteccia nella malattia di Alzheimer e nelle demenze senili ha suggerito l'impiego di farmaci colinergici (e, in prospettiva, anche della n.) nel tentativo di contenere la progressione di queste forme.

Aneddotici sono infine i dati che sostengono un effetto favorevole del fumo nella sindrome di Gilles de la Tourette.

**Bibliografia**


Benowitz N. L., *N. Engl. J. Med.*, 1988, **319**, 1318-1330.
Benowitz N. L., *N. Engl. J. Med.*, 1989, **320**, 1619-1621.
Bock G., Marsh J. eds., *Biology of Nicotine Dependence*, 1990, Wiley, Chichester.
Carr L. A., Rowell P. P., *Neuropharmacology*, 1990, **29**, 311-314.
Changeux J. P., *TIPS*, 1990, **11**, 485-492.
Clarke, P. B. S., *Psychopharmacology*, 1987, **92**, 135-143.
Clarke P. B. S., *Biochem. Pharmacol.*, 1990, **40**, 1427-1432.
Corrigall W. A., Herling S., Coen K. M., *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1989, **33**, 559-562.
Forman S. A., Miller K. W., *TIPS*, 1989, **10**, 447-452.
Fung Y. K., Lau Y. S., *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1989, **33**, 1-6.
Glassman A. H., Covey L. S., *Drugs*, 1990, **40**, 1-5.
Goodman Gilman A., Rall T. W., Nies A. S., Taylor P. eds., *Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 1990, Pergamon Press, New York.
Navarro H. A., Seidler F. J., Whitmore W. L., Slotkin T. A., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1988, **244**, 940-944.
Nordberg A., Fuxe K., Holmstedt B., Sundwall A. eds., *Nicotinic Receptors in CNS. Their Role in Synaptic Transmission*, in *Prog. in Brain Res.*, 1989, **79**, 1-366.
Pauly J. R., Ullman E. A., Collins A. C., *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1990, **35**, 171-179.
Ribary U., Lichtensteiger W., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1989, **248**, 786-792.
Rose K. J., Strand F. L., *Int. J. Devl. Neurosci.*, 1990, **8**, 565-573.
Sahakian B., Jones G., Levy R. *et al.*, *Br. J. Psych.*, 1989, **154**, 797-800.
Steinbach J. H., Ifune C., *TINS*, 1989, **12**, 3-6.
von Euler U. S. ed., *Tobacco alcaloids and related compounds*, 1965, Pergamon Press, London.
Wonnacott S., *TIPS*, 1990, **11**, 216-219.
Wonnacott S., Russel M. A. H., Stolerman I. P. eds., *Nicotine Psychopharmacology: Molecular, Cellular and Behavioural Aspects*, 1990, Oxford Univ. Press, New York.


GIORGIO BIGNAMI E AMILCARE CARPI DE RESMINI

## NICOTINAMMIDE ADENINDINUCLEOTIDE

F. *nicotinamide adénine dinucléotide*. - I. *nicotinamide adenine dinucleotide*. - T. *Nikotinsäureamid-Adenindinukleotid*. - S. *nicotinamida adenina nucleótido*.

SOMMARIO

**Generalità** (col. 5443). - **Struttura** (col. 5444). - **Funzioni** (col. 5444).

### Generalità

La nicotinammide adenindinucleotide [NAD] è stata evidenziata nel 1904 da A. Harden e W. Young tra i componenti di una miscela di composti a basso peso molecolare (la *cozimasi*) ottenuta per dialisi o per deproteinizzazione al calore di estratti di lievito. La indispensabile presenza della cozimasi per il realizzarsi dei processi di fermentazione in estratti acellulari è stata la prima evidenza dell'importanza metabolica del NAD. Il NAD fu isolato soltanto nel 1936 indipendentemente da H. von Euler e da O. Warburg e W. Christian e, insieme al NADP (nicotinammide adenindinucleotide fosfato) a cui è strettamente correlato sia dal punto di vista strutturale che funzionale, viene indicato come «coenzima piridinico» ed è a esso associata la funzione di trasportatore di equivalenti riducenti o trasportatore di idrogeno.

### Struttura

Il NAD risulta costituito da un residuo di nicotinammide connesso con un legame N-β-glicosidico al carbonio $C_1$ di un residuo di ribosio il quale a sua volta è esterificato in posizione 5 dal gruppo fosforico terminale dell'ac. adenosindifosforico (ADP). Il NADP differisce dal NAD per la presenza di un residuo di ac. fosforico esterificato in posizione 2 del ribosio legato alla base purinica ed è sintetizzato dal NAD per azione dell'enzima NAD-ATP fosfotransferasi.

Le strutture del NAD e del NADP in forma ossidata sono riportate in fig. 1. Per quanto sia consuetudine rappresentare la forma ossidata di questi due composti come $NAD^+$ e $NADP^+$, un formalismo peraltro giustificato dalla struttura riportata in fig. 1, a pH fisiologici i residui fosforici presenti nelle due molecole si trovano in maniera preponderante in forma dissociata, determinando così una carica netta negativa che tende a −1 per il NAD e a −3 per il NADP.

### Funzioni

Il ruolo di trasportatori di idrogeno viene espletato dal NAD e NADP fungendo entrambi da cofattori (v. COENZIMI) in numerosi processi ossidoriduttivi catalizzati da specifiche deidrogenasi secondo uno schema di reazione generale del tipo:

$$AH_2 + NAD^+ (NADP^+) \overset{enzima}{\rightleftharpoons} A + NADH(NADPH) + H^+ \qquad (1)$$

Per quanto l'intera molecola dei cofattori piridinici sia indispensabile per il loro corretto posizionamento nel sito specifico della molecola enzimatica, è solo la porzione nicotinammidica che prende parte al chimismo del processo ossidoriduttivo, cosicché la reazione (1) può essere più specificamente rappresentata:

AH₂ + [piridinio-R]–C(=O)NH₂ ⇌ A + [(pro-R)H H(pro-S) diidropiridina-R]–C(=O)NH₂ + H⁺ (2)

nicotinammide adenindinucleotide

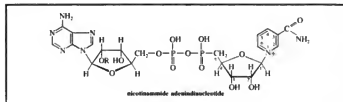
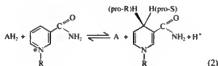



Fig. 1. Struttura del NAD (R=H) e del NADP (R= $-PO[OH]_2$) in forma ossidata).

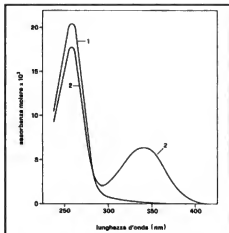



Fig. 2. Spettri di assorbimento dei coenzimi piridinici in forma ossidata (1) e in forma ridotta (2).

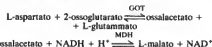
in cui R rappresenta la porzione nucleotidica del cofattore piridinico e i due atomi di idrogeno equivalenti presenti sulla forma ridotta sono stati indicati come *pro-R* e *pro-S*.

Si desume dallo schema che la riduzione del $NAD^+$ implica il trasferimento di un atomo di idrogeno e di un elettrone il che viene a volte definito come il trasferimento sulla posizione 4 dell'anello piridinico di uno ione idruro. Ciò tuttavia non deve indurre ad assumere che tale particella ionica sia presente e individuabile nel chimismo del processo ossidoriduttivo come specie ben definita, ma piuttosto, come nella stragrande maggioranza delle reazioni enzimatiche, sia la risultante di un meccanismo concertato di trasferimento a cui prendono parte gruppi funzionali di tutti i componenti il sistema di reazione: substrato, cofattore e molecola proteica.

La specifica posizione dell'anello piridinico sulla quale si realizza il processo ossidoriduttivo è stata individuata analizzando lo stato di deuterazione del NAD ridotto, formato durante l'ossidazione catalizzata da opportune deidrogenasi di substrati deuterati. Con una elegante sperimentazione inoltre, sfruttando la reversibilità del processo ossidoriduttivo e utilizzando il coenzima in forma ridotta nella quale gli atomi di idrogeno delle posizioni 2, 4 e 6 erano sostituiti uno alla volta da atomi di deuterio, è stato mostrato che soltanto il NAD ridotto deuterato in posizione 4 era capace di generare, in presenza di ac. piruvico e dell'enzima latticodeidrogenasi, la formazione di ac. lattico deuterato. Oltre a una rigorosa specificità nella posizione di riduzione dell'anello piridinico, il processo risulta stereospecifico potendo l'idrogeno trasferito approcciare la molecola del cofattore e quindi legarsi, esclusivamente in posizione *pro-R*. Una tale stereospecificità è offerta anche dalla malicodeidrogenasi, dall'isocitricodeidrogenasi e dalla D-gliceraldeidedeidrogenasi. Una rigorosa specificità, questa volta però per la posizione *pro-S* del coenzima piridinico, è invece offerta dalle deidrogenasi che esplicano la loro azione sul glicoso-6-fosfato, 6-fosfogluconato, glutammato e 3-fosfogliceraldeide.

La riduzione del NAD come pure quella del NADP è associata a un significativo cambiamento dello spettro di assorbimento dei due cofattori. La generazione di una struttura di tipo chinonico (cfr. schema 2) determina infatti la comparsa di un picco nello spettro di assorbimento con un massimo a 340 nm (fig. 2). Tale differenza, quantizzabile con una variazione di coefficiente di estinzione molare a 340 nm pari a 6220, ha permesso lo sviluppo di un'accurata metodologia di dosaggio di svariati enzimi e metaboliti anche non direttamente coinvolti nei processi ossidoriduttivi, che si è rivelata particolarmente utile in campo diagnostico. Tale metodologia si basa essenzialmente sull'accoppiamento di più reazioni consecutive l'ultima delle quali è coenzima piridinico-dipendente; così ad es. i livelli plasmatici della aspartatoaminotransferasi (GOT) possono essere facilmente dosati utilizzando come sistema ancillare la malicodeidrogenasi (MDH) secondo lo schema:

$$\text{L-aspartato} + \text{2-ossoglutarato} \underset{}{\overset{\text{GOT}}{\rightleftharpoons}} \text{ossalacetato} + \text{L-glutammato}$$

$$\text{ossalacetato} + \text{NADH} + H^+ \overset{\text{MDH}}{\rightleftharpoons} \text{L-malato} + NAD^+$$

La velocità di ossidazione del NADH, determinata misurando il decremento in assorbanza a 340 nm, è proporzionale alla velocità di formazione di ossalacetato e quindi all'attività enzimatica che lo produce.

Dal punto di vista metabolico il NAD garantisce, in assenza di ossigeno, l'ossidazione di molecole in modo controllato così che l'energia associata al processo ossidoriduttivo, immagazzinata in specifici metaboliti, possa essere utilizzata dalla cellula in modo opportuno. Nella glicolisi anaerobia ad es., l'energia connessa all'ossidazione NAD-dipendente della 3-fosfogliceraldeide viene di fatto utilizzata per la sintesi di ATP (v. ADENOSINTRIFOSFORICO ACIDO*). È chiaro che per poter espletare la sua azione di trasportatore di idrogeno, il coenzima ridotto deve essere nuovamente ossidato. Ciò avviene in molti casi mediante la riduzione di specie molecolari precursori di metaboliti che vengono o escreti come tali dalla cellula oppure accumulati e dirottati in vie metaboliche diverse. Un meccanismo di rigenerazione dei coenzimi piridinici in forma ossidata, cui è altresì associata una significativa produzione di ATP, si realizza attraverso la catena respiratoria nel processo di fosforilazione ossidativa (v. FOSFORILAZIONE OSSIDATIVA).

I diversi rapporti tra forma ossidata e ridotta dei due coenzimi piridinici ($NAD^+$/NADH e $NADP^+$/NADPH) nella cellula e il loro specifico coinvolgimento in tappe diverse del metabolismo cellulare, suggeriscono una generalizzazione, peraltro non rigorosa, che il $NAD^+$, come già accennato, abbia un ruolo di agente ossidante mentre il $NADP^+$ venga ridotto a NADPH e assolva in tale forma alla funzione di agente riducente in processi biosintetici.

**Bibliografia**

Dixon M., Webb E. C., *Enzymes*, 3 ed., 1979, Longman, London.
Lehninger A. L., *Biochimica*, 1975, Zanichelli, Bologna.
Metzler D. E., *Biochemistry: The Chemical Reaction of Living Cell*, 1971, Academic Press, New York.

UMBERTO MURA

**NIFEDIPINA E ALTRI CALCIOBLOCCANTI** [v. vol. X, col. 1179]

SOMMARIO

**Classificazione**

I calciobloccanti, o calcioantagonisti (v.*), rappresentano uno dei più importanti progressi nella terapia cardiovascolare di questi ultimi anni; recentemente infatti si sono resi disponibili per l'uso clinico numerosi nuovi composti dotati di attività calcioantagonista i quali presentano, rispetto ai capostipiti, peculiari caratteristiche farmacocinetiche e farmacodinamiche. Anche il campo di applicazione di questi farmaci, inizialmente limitato all'*angina pectoris* e ad alcune aritmie, si è esteso, coinvolgendo la terapia dell'ipertensione arteriosa sistemica, sulla base di studi clinici controllati.

**TAB. I. CLASSIFICAZIONE CHIMICA DEI CALCIOANTAGONISTI O CALCIOBLOCCANTI**

| A<br>Fenilalchilamine | B<br>Diidropiridine | C<br>Benzotiazepine | D<br>Piperazine | E<br>Altri |
|---|---|---|---|---|
| Verapamil<br>Gallopamil<br>Tiapamil<br>Anipamil | Nifedipina<br>Nicardipina<br>Nitrendipina<br>Nisoldipina<br>Nimodipina<br>Felodipina<br>Amlodipina | Diltiazem | Flunarizina<br>Cinnarizina<br>Lidoflazina | Bepridil<br>Prenilamina<br>Fendilina<br>Perexilina |

Numerose classificazioni sono state proposte per i calcioantagonisti. Facendo riferimento alla struttura chimica è possibile raggrupparli in derivati delle fenilalchilamine, delle diidropiridine, delle benzotiazepine e delle piperazine (tab. I); segnaliamo il rapido accrescimento del gruppo dei derivati diidropiridinici.

Tra le classificazioni proposte la più completa è quella di Godfraind, riportata con piccole modificazioni nella tab. II, che tiene conto dei fini meccanismi di azione cellulare rilevabili in condizioni sperimentali per ogni singolo calcioantagonista. Da tale classificazione tuttavia non è facile ricavare quelli che sono gli effetti *in vivo* e al dosaggio terapeutico.

Di conseguenza sul piano clinico è opportuno differenziare i calcioantagonisti in tre categorie (fig. 1), cui sono da aggiungere quelli «atipici».

1. *Calcioantagonisti «verapamil-like»*. – I farmaci di questo gruppo, il cui capostipite è il verapamil (diltiazem, gallopamil, tiapamil, anipamil), hanno un'azione elettrofisiologica evidente che consegue all'effetto sulle fibre lente cardiache calciodipendenti (nodo del seno e nodo atrioventricolare) e che si esplica in termini clinici con un allungamento del tempo di conduzione atrioventricolare, con una possibile riduzione della frequenza cardiaca e con effetti antiaritmici. Questi farmaci inducono inoltre vasodilatazione periferica e coronarica, ma deprimono la contrattilità in maggior misura rispetto agli altri calcioantagonisti.

2. *Calcioantagonisti «nifedipine-like»*. – Questo gruppo, il cui prototipo è rappresentato dalla nifedipina, comprende una serie di derivati diidropiridinici (nicardipina, nitrendipina, nisoldipina, felodipina, amlodipina), il cui effetto predominante è quello rilasciante la muscolatura liscia coronarica e periferica. Alle dosi terapeutiche sia l'azione

**TAB. II. CLASSIFICAZIONE DELLE SOSTANZE CON EFFETTO SUI MOVIMENTI TRANSMEMBRANA DEL CALCIO**
(Da Godfraind, 1987, parzialmente modificata)

**A) Calcioinibitori o calcioantagonisti**

1) Selettivi per i canali lenti miocardici (verapamil, diltiazem, gallopamil, nifedipina, nicardipina, felodipina, etc.)
2) Non selettivi per i canali lenti miocardici
con azione sui canali del $Ca^{2+}$ e del $Na^{+}$ (bepridil, lidoflazina, perexilina)
con effetti sui canali del $Ca^{2+}$ e su altri siti (anestetici locali, diazepam, etc.)

**B) Facilitanti o calcioagonisti**

1) Con azione sui canali lenti (Bay K 8644)
2) Con azione sul reticolo sarcoplasmatico (caffeina, etc.)

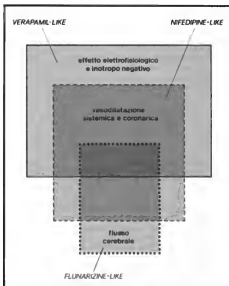



Fig. 1. Classificazinne clinica dei calcioantagonisti. Lo schema considera gli effetti dei calcioantagonisti su vari parametri; la sovrapposizione delle aree indica la possibilità che le varie azioni, sia pure di intensità variabile, siano possedute da tutti i calcioantagonisti. L'area delimitata da riga continua si riferisce ai farmaci *verapamil-like*, la cui peculiarità è l'effetto elettrofisiologico e quello inotropo negativo; l'area delimitata da tratteggio si riferisce ai farmaci *nifedipine-like*, caratterizzati dall'effetto vasodilatatore sistemico e coronarico; l'area delimitata da puntini si riferisce ai farmaci *flunarizine-like*, caratterizzati dall'effetto sul flusso cerebrale. (*Da Godfraind T., parzialmente modificata*).





Digitized by Google

**TAB. III. PRINCIPALI CARATTERISTICHE RELATIVE ALLA FARMACOLOGIA CLINICA DEI CALCIOANTAGONISTI**

| Farmaco | Legame alle sieroproteine (%) | Comparsa effetto massimo* (min) | $T_{1/2}$** (h) | Durata azione* (h) | Dose *per os* (mg/*die*) | Dose e. v. | Più comuni indicazioni cliniche proposte |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Verapamil | 90 | 30<br>3-5 e. v. | 3-7 | ~ 6 | 240-480 | 5-10 mg in bolo → infusione | Angina, aritmie, ipertensione |
| Diltiazem | 80 | 60-180 | ~ 4 | 6-8 | 180-360 | 0,15-0,3 mg/kg in bolo → infusione | Angina, ipertensione, (aritmie) |
| Gallopamil | 90 | 60-120 | 3-4 | 6-8 | 75-150 | — | Angina |
| Nifedipina | > 90 | 20-30<br>3-5 sublinguale | 3-4 | 4-6 | 40-80 | — | Angina, ipertensione |
| Nisoldipina | ~ 99 | 60-120 | ~ 3 | 8-10 | 20-60 | — | Angina, ipertensione |
| Felodipina | > 99 | 60 | 14 | ~ 20 | 10-20 | — | Angina, ipertensione |
| Nicardipina | > 90 | 20-120 | ~ 2 | 8 | 60-120 | — | Ipertensione, angina |
| Nitrendipina | ~ 98 | 60-120 | ~ 12 | sino a 24 | 10-40 | — | Ipertensione |
| Nimodipina | > 90 | 60-90 | 2-5 | 6-8 | 90 | 0,35 mg/kg ogni 4 h | Protezione nell'iscbemia cerebrale |

* se non specificato si intende *per os*;
** la durata d'azione può essere maggiore del $T_{1/2}$ per la presenza di metaboliti attivi o per le specifiche caratteristiche della molecola (cfr. testo).

inotropa negativa che quella cosiddetta elettrofisiologica sono trascurabili.

3. *Calcioantagonisti «flunarizine-like».* – Si tratta di un gruppo eterogeneo di farmaci con un effetto specifico sui recettori del calcio a livello dei vasi cerebrali. Sono comprese in questo gruppo la flunarizina, la cinnarizina e la nimodipina, nuovo derivato diidropiridinico.

*Calcioantagonisti «atipici».* – Oltre alla prenilamina e alla perexilina, il cui effetto clinico è trascurabile, va ricordato il bepridil che presenta alcuni aspetti farmacodinamici interessanti.

In definitiva, il termine calcioantagonista sta ad indicare la proprietà di un farmaco di influenzare il movimento transmembrana del calcio, capacità comune a tutti; tuttavia a seconda delle molecole possono prevalere gli effetti sul potenziale d'azione delle fibrocellule cardiache specifiche (*verapamil-like*) o sulla muscolatura liscia (*nifedipine-like*) o quelli sul circolo cerebrale (*flunarizine-like*). Ne consegue la potenziale diversa indicazione clinica di farmaci con meccanismo d'azione comune ma con proprietà farmacodinamiche e farmacocinetiche *in vivo* differenti (tab. III).

V. anche: CALCIOANTAGONISTI*; CALCIO*.

**Nuovi calcioantagonisti**

*Gallopamil.* – Il gallopamil (Procorum®) è un calcioantagonista del gruppo *verapamil-like*, di antica sintesi ma riproposto recentemente, con la struttura chimica di un derivato delle fenilalchilamine. La molecola del gallopamil si differenzia da quella del verapamil unicamente per l'aggiunta di un radicale metossilico: ciò tuttavia è sufficiente a provocare importanti differenze tra i due farmaci. Il gallopamil presenta un caratteristico meccanismo d'azione. Agisce infatti sul trasporto del calcio anche a livello mitocondriale e riduce i contenuti miocardici di catecolamine, risultando efficace, secondo studi sperimentali, in corso di riperfusione postischemica. Gli altri effetti sul circolo coronarico e periferico e quelli elettrofisiologici sono nel complesso sovrapponibili al verapamil ma l'azione sul cronodromotropismo è meno spiccata e l'effetto inotropo negativo sembra essere trascurabile *in vivo*. Con il gallopamil inoltre anche altri effetti collaterali, quali la stipsi, hanno una scarsa incidenza ed il rapporto dose-effetto è più favorevole del verapamil. Il gallopamil si è dimostrato efficace sia nell'angina primaria che secondaria.

*Nicardipina.* – La nicardipina (Perdipina®; Nicardal®; Ranvil® e altri) è una diidropiridina di recente sintesi che si differenzia dalla nifedipina per la maggior selettività per la muscolatura liscia vascolare, cui consegue un'importante vasodilatazione arteriolare periferica e coronarica, e per una minore azione inotropa negativa.

Gli effetti collaterali della nicardipina sono analoghi a quelli della nifedipina e in rapporto alla azione vasodilatatrice; alcune segnalazioni ne indicherebbero un'incidenza minore rispetto alla molecola capostipite.

La indicazione terapeutica principale della nicardipina è data dall'ipertensione arteriosa sistemica. Peraltro non è facile codificare il ruolo esatto della nicardipina rispetto alla nifedipina.

*Nitrendipina.* – La nitrendipina (Baypress®) è una diidropiridina di seconda generazione con proprietà farmacodinamiche analoghe alla nicardipina: elevata selettività per la muscolatura liscia vascolare senza evidenti effetti cardiodepressivi.

La caratteristica che differenzia la nitrendipina dalle altre diidropiridine è la lunga durata d'azione, che ne consente la somministrazione in una dose singola giornaliera, nonostante l'emivita plasmatica media del farmaco sia di circa 12 h. Per spiegare il protrarsi dell'effetto farmacodinamico rispetto a quello farmacocinetico sono stati ipotizzati vari meccanismi e in particolare che la nitrendipina si leghi, in funzione della sua liposolubilità, al sarcolemma con altissima affinità, continuando ad esercitare a lungo l'effetto calcioantagonista.

L'indicazione terapeutica elettiva della nitrendipina è la ipertensione arteriosa sistemica.

*Amlodipina.* – L'amlodipina (Norvasc®) è una diidropiridina di seconda generazione di recentissima sintesi, caratterizzata da un'alta biodisponibilità orale e da un lungo tempo di dimezzamento (fino a 30 h); tali proprietà farmacocinetiche consentirebbero la somministrazione dell'amlodipina in un'unica dose giornaliera. Il farmaco è ancora in una fase iniziale di sperimentazione nell'angina e nell'ipertensione arteriosa.

*Nisoldipina.* – La nisoldipina (Syscor®) è un nuovo calcioantagonista, derivato diidropiridinico, ancora in fase di sperimentazione clinica che presenta un'alta specificità di azione per la muscolatura liscia vascolare. Il farmaco risulta pertanto un potente vasodilatatore arteriolare periferico e coronarico; è stata segnalata inoltre una riduzione del precarico. Sperimentalmente la caratteristica peculiare della nisoldipina consiste nell'assenza di un effetto inotropo negativo anche a dosaggi elevati.

Studi su casistiche peraltro ancora limitate hanno confermato che la nisoldipina possiede un'azione antianginosa e antipertensiva. L'efficacia e la sicurezza del farmaco come vasodilatatore nella terapia dello scompenso sono ancora in una fase preliminare di valutazione.

*Felodipina.* – La felodipina (Plendil®) è un nuovo derivato diidropiridinico che possiede un rilevante effetto vasodilatatore arterioso periferico con una trascurabile azione inotropa negativa. La felodipina determina anche vasodilatazione arteriolare renale con conseguente aumento del flusso ematico distrettuale. Studi in acuto hanno mostrato un'importante riduzione delle resistenze coronariche. A differenza delle altre diidropiridine, la felodipina è dotata di effetti elettrofisiologici: dopo test acuto si osserva un prolungamento della conduzione intranodale, seppure di entità minore rispetto al verapamil.

I *trials* clinici con la felodipina riguardano al momento soprattutto il trattamento dell'ipertensione arteriosa essenziale. Mentre l'uso della felodipina in monoterapia appare limitato dagli effetti collaterali secondari alla marcata attività simpatica riflessa, quello in associazione ai betabloccanti risulta efficace e ben tollerato. Recenti studi hanno documentato che la felodipina aumenta la durata dell'esercizio fisico in soggetti con angina da sforzo in trattamento betabloccante. Alcuni dati preliminari segnalano anche un effetto favorevole della felodipina come vasodilatatore nell'insufficienza cardiaca.

*Nimodipina.* – La nimodipina (Nimotop®; Periplum®) si differenzia dai nuovi derivati diidropiridinici in quanto inibisce la contrazione della muscolatura liscia vascolare indotta dai calcio-ioni con azione selettiva sui vasi cerebrali. Il farmaco determina un aumento del flusso ematico cerebrale e una riduzione del vasospasmo cerebrale secondario a ischemia, senza significative modificazioni dei parametri cardiocircolatori. Le indicazioni terapeutiche della nimodipina sono pertanto relative alla sua attività protettiva sul circolo cerebrale (v. ENCEFALOPATIE VASCOLARI*).

*Bepridil.* – È un calcioantagonista «atipico» non selettivo per i canali lenti del calcio, che secondo studi sperimentali agisce sulle fibre cardiache anche a livello dei canali rapidi del sodio, producendo un effetto «*quinidine-like*» con aumento della durata del potenziale d'azione e del periodo refrattario.

Studi clinici controllati hanno documentato l'efficacia del bepridil in pazienti con angina stabile da sforzo. Di grande interesse sono le ricerche sulle proprietà antiaritmiche del farmaco.

**Principali usi clinici**

*Ischemia acuta.* – Molti studi hanno verificato gli effetti dei calcioantagonisti nell'ischemia acuta e in particolare l'azione di riduzione dell'estensione dell'area di necrosi. Nonostante alcuni dati sperimentali siano positivi al riguardo, gli studi clinici nell'uomo non hanno dato risultati univoci. È possibile che un effetto benefico possa essere ottenuto, analogamente agli altri interventi «cardioprotettivi», se la somministrazione del farmaco avviene in una fase relativamente precoce. Il più importante e specifico effetto dei calcioantagonisti in corso di ischemia consiste nel limitare l'abnorme ingresso di calcio nella cellula (*Ca overload*), che si verifica in fase di riperfusione in conseguenza della lesione della membrana cellulare. Anche i risultati promettenti ottenuti inizialmente con il diltiazem in pazienti con infarto non Q (riduzione del reinfarto) non sono stati confermati in un *trial* successivo condotto su di una popolazione più vasta con infarti di vario tipo.

*Angina spontanea.* – Il meccanismo fisiopatologico alla base dell'angina variante di Prinzmetal è lo spasmo coronarico: di conseguenza i calcioantagonisti sono farmaci di prima scelta in questa forma particolare di angina. L'uso preferenziale va riservato alla nifedipina in considerazione del suo importante effetto vasodilatatore coronarico.

In contrasto con il più lineare meccanismo fisiopatologico dell'angina vasospastica pura, l'angina instabile riconosce una patogenesi multifattoriale (spasmo, iperaggregazione piastrinica, fissurazione di placca, trombosi). Esistono tuttavia documentazioni dell'efficacia dei calcioantagonisti anche nell'angina instabile; lavori di confronto, soprattutto con i betabloccanti, hanno confermato l'utilità dei calcioantagonisti nel ridurre l'incidenza delle crisi stenocardiche. È opportuno segnalare tuttavia che questi farmaci non sembrano influenzare l'incidenza di eventi maggiori (infarto, morte) in soggetti con *angor* instabile. In tal senso il problema dell'angina instabile va affrontato nella sua complessità utilizzando quindi sia farmaci attivi sulla coagulazione che procedure cruente.

*Angina secondaria.* – I calcioantagonisti giocano un ruolo importante nel trattamento dell'angina da sforzo e possono essere considerati, insieme ai betabloccanti, come farmaci di prima scelta. Recenti lavori di confronto indicherebbero una preferenzialità per i calcioantagonisti (soprattutto per quelli *verapamil-like*) in funzione della migliore tolleranza individuale.

*Aritmie.* – Gli effetti elettrofisiologici dei calcioantagonisti *verapamil-like* e la loro specifica selettività di azione sul nodo atrioventricolare sono ben noti e le loro indicazioni in campo aritmologico già da tempo codificate.

*Ipertensione arteriosa.* – Negli ultimi anni i calcioantagonisti sono diventati farmaci di primo livello nella terapia dell'ipertensione arteriosa. Particolarmente vantaggiosa risulta la riduzione delle resistenze arteriose periferiche con assente (verapamil e diltiazem) o trascurabile (diidropiridine) tachicardia riflessa, a differenza di quanto avviene con altri vasodilatatori. I calcioantagonisti sono sprovvisti inoltre di effetti metabolici indesiderati e apparentemente non inducono tolleranza; quelli di tipo diidropiridinico possiedono anche un effetto natriuretico. La preferenzialità all'impiego di ciascuno di essi si basa sull'entità degli effetti collaterali nel singolo caso e quindi sulla *compliance* e sulla possibile associazione con altri farmaci. In questo senso andrebbero privilegiati i calcioantagonisti dell'ultima generazione e in particolare le diidropiridine.

**Impieghi in discussione**

*Insufficienza cardiaca.* – Molti studi hanno documentato l'efficacia della nifedipina in casi selezionati di insufficienza cardiaca, in conseguenza dell'effetto di vasodilatazione arteriolare periferica. In particolare il farmaco, sommini-





Digitized by Google

strato per via sublinguale, si è dimostrato utile nel trattamento delle crisi ipertensive associate o meno a insufficienza ventricolare sinistra. Tuttavia il risultato positivo in acuto non sempre si mantiene in cronico nei pazienti con severa compromissione della contrattilità, in quanto l'effetto vasodilatatore periferico può non controbilanciare quello inotropo negativo; può realizzarsi quindi un peggioramento delle condizioni cliniche ed emodinamiche del paziente. Al riguardo dei nuovi derivati diidropiridinici, che avrebbero un significativo effetto vasodilatatore periferico in assenza di un'azione inotropa negativa, mancano al momento lavori in cronico che consentano di valutarne l'efficacia a lungo termine e quindi di prospettare un loro possibile impiego nella terapia dello scompenso cardiaco.

*Cardiomiopatie.* – Da vari anni è stato proposto l'uso dei calcioantagonisti nelle cardiomiopatie ipertrofiche presumendo che questi farmaci possano prevenire le anomalie metaboliche e anatomiche di questa affezione, riducendo nel contempo la possibilità di incidenza di aritmie. Tra i farmaci più studiati va segnalato il verapamil il quale determina in specifiche condizioni un miglioramento del rilasciamento e quindi del riempimento ventricolare sinistro globale e regionale.

*Ipertensione polmonare.* – Nell'ultimo decennio i vasodilatatori sono stati proposti nel trattamento della ipertensione polmonare primitiva di grado avanzato. Alcuni studi, anche se condotti su casistiche limitate, indicano un effetto positivo della nifedipina nel senso di una riduzione delle resistenze e delle pressioni arteriose polmonari.

*Vasculopatie cerebrali.* – I calcioantagonisti classici, ma soprattutto i composti più recenti, come la nimodipina, appaiono efficaci nel ridurre il numero e/o la severità degli attacchi in pazienti con emicrania. Inoltre va ricordata l'azione favorevole della nimodipina nell'attenuare i danni indotti dall'ischemia cerebrale.

*Vasculopatie periferiche.* – Un'altra possibile applicazione della nifedipina è la malattia di Raynaud nella quale è stato documentato un miglioramento obiettivo dopo trattamento.

**Bibliografia**


Bracchetti D., Sangiorgio P. *et al.*, *G. Ital. Cardiol.*, 1988, **18**, 970.
Bracchetti D., Fulvi M., *Medicina-Riv. E.M.I.*, 1988, **8**, 379-398, *bibl.*
Ferrari M., *Farmacologia clinica cardiovascolare*, 1983, 2 ed., Piccin, Padova.
Freedman D. D., Water D. D., *Drugs*, 1987, **34**, 578.
Gelmers H. J., *N. Engl. J. Med.*, 1988, **318**, 203.
Godfraind T., *Am. J. Cardiol.*, 1987, **59**, 11B.
Goodman L. S., Gilman A., *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 1985, 7 ed., Macmillan, New York.
Lubsen J., *Br. Heart J.*, 1986, **56**, 400.
McLeod A., Jewitt D. E., *Drugs*, 1986, **31**, 177.
Moss A. J., *N. Engl. J. Med.*, 1988, **319**, 385.
Opie L. H., Buhler F. R., Fleckenstein A. *et al.*, *Am. J. Cardiol.*, 1987, **60**, 630.
Rosing D. R. *et al.*, *Am. J. Cardiol.*, 1985, **55**, 185B.
Tartagni F., Magnani B., *Cardiologia*, 1987, **32**, 1249.
Tietze K. J., Shwartz M. L. *et al.*, *Drugs*, 1987, **32**, 531.
Vanhoutte P. M., *Am. J. Cardiol.*, 1987, **59**, 3A.
Zanchetti A., *Am. J. Cardiol.*, 1987, **59**, 130B.


DANIELE BRACCHETTI E MARIA FULVI

**NITROPRUSSIATO DI SODIO**: V. IPERTENSIONE ARTERIOSA* (4005); VASODILATATORI (XV, 1793).

## NIZATIDINA

F. *nizatidine.* - I. *nizatidine.* - T. *Nizatidine.* - S. *nizatidina.*

La nizatidina (Cronizat®; Nizax®) è l'ultimo $H_2$-antagonista consegnato alla pratica clinica, con formula chimica N-[2-(2-dimetilaminometil-4-tiazolilmetiltio)etil]-N'-metil-2-nitrovinilendiamina, strutturalmente simile alla famotidina per quanto concerne il nucleo ad anello tiazolico (fig. 1).

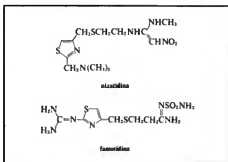



Fig. 1. Formula di struttura della n.: si noti che la famotidina ha un analoga struttura.

### Farmacocinetica

Dopo somministrazione orale la n. è rapidamente assorbita con biodisponibilità superiore al 90% e con picco di comparsa ematica entro 1-3 h dall'assunzione orale. L'assorbimento non è influenzato dal contemporaneo apporto di cibo; tuttavia la somministrazione di idrossido di magnesio ed alluminio un'ora dopo la n. ne riduce l'assorbimento in misura variabile dal 10 al 30%.

L'eliminazione è rapida, con una emivita dopo somministrazione orale od endovenosa, variabile da 1,1 a 1,6 h e con riduzione della concentrazione ematica superiore al 90% entro 16 h. Il 92-98% della dose è escreto dai reni in forma prevalentemente immodificata o dopo ossidazione e dealchilazione. Una riduzione significativa della clearance della creatinina ($< 20$ ml/min) determina quindi un corrispondente aumento dell'emivita plasmatica, fino ad 8,5 h. Al fine di evitare fenomeni di accumulo nei pazienti con grave insufficienza renale è consigliabile ridurre almeno del 25-50% la dose normale del farmaco.

### Farmacodinamica

Studi *in vitro* e *in vivo* sull'animale da esperimento, hanno evidenziato che il farmaco è un antagonista competitivo e selettivo dei recettori $H_2$-istaminici, con una potenza, su base equimolare, variabile da 4,5 a 11 volte quella della cimetidina in relazione al modello sperimentale utilizzato.

Nell'uomo la somministrazione serale di 30,100 e 300 mg di n. a volontari sani si è dimostrata in grado di ridurre la secrezione acida notturna del 57, 73 e 100% per un periodo di circa 10 h, con una attività inibente massima, limitata alle prime 3 h. Dopo 10 h infatti, solo la dose più elevata si era dimostrata significativamente più attiva del *placebo*.

Nei confronti della cimetidina (300 mg *bid* o 800 mg/*nocte*), la n. (150 e 300 mg *bid* e 150 e 300 mg/*nocte*) ha evidenziato una sovrapponibile attività inibente sulla secrezione acida notturna (riduzione percentuale del 70, 79 e 75% rispettivamente con n. 150 e 300/*nocte* o cimetidina 800/*nocte*), ma una minore capacità di controllare la risposta secretoria ai pasti soprattutto quello serale. Per contro la n. si è dimostrata significativamente più attiva, per potenza e durata, nell'inibire la risposta secretoria alla pen-

Digitized by Google

tagastrina, alla caffeina e al betazolo. Ancora 10 h dopo la somministrazione orale di 150 e 300 mg di n. si era potuto documentare una inibizione dell'*output* acido di circa il 47%.

Nei confronti della ranitidina, 300 mg, o famotidina, 40 mg, la n., 300 mg, ha evidenziato una sovrapponibile attività inibente per quanto concerne la secrezione acida notturna ma non quella delle 24 h, certamente in conseguenza della sua minore durata d'azione e della incapacità di interferire significativamente con la secrezione acida nel giorno successivo alla somministrazione notturna.

Nessuna significativa interferenza si è documentata nei confronti dell'*output* di gastrina sia dopo una singola dose sia dopo somministrazione ripetuta di n. 300 mg/*die*, per 4 settimane. La selettività d'azione del farmaco è confermata dall'assenza di effetti sul sistema endocrino e riproduttivo. Priva di attività antiandrogena, la n. non interferisce con il *release* basale o stimolato di vari ormoni (LH, FSH, ADH, estradiolo, ormone della crescita, paratormone, testosterone, prolattina); l'aumento del TSH, osservato in una esperienza, documenta una interferenza minima e non rilevante dal punto di vista clinico con il *release* di TRH.

Nessuna interferenza è stata sino ad ora documentata circa il metabolismo epatico di farmaci quali benzodiazepine, warfarin, teofillina, lidocaina, metoprololo ed antipirina.

**Applicazioni cliniche**

L'esperienza attualmente disponibile, non estesa come quella degli altri $H_2$-antagonisti, è tuttavia interessante; si riferisce in particolare alla terapia dell'ulcera duodenale ed in minor misura dell'ulcera gastrica e dell'esofagite peptica. In indagini controllate, nei confronti del *placebo*, in pazienti con ulcera duodenale, la n. alla dose di 25 o 150 mg *bid* oppure 100 o 300 mg alla sera prima di coricarsi, si è dimostrata significativamente superiore nell'indurre la remissione dei sintomi e la cicatrizzazione dell'ulcera, dopo 2,4 o 8 settimane di trattamento. Le percentuali di guarigione, con la dose terapeutica consigliata di 300 mg/*nocte* o 150 mg *bid*, variano dal 61-75% dopo 4 settimane fino all'82% dopo 2 mesi di trattamento con un guadagno terapeutico medio nei confronti del *placebo*, rispettivamente del 36 e 30%. Sovrapponibile è risultata l'attività clinica nei confronti della cimetidina 800 mg/*nocte* e della ranitidina 300 mg/*nocte* con percentuali di cicatrizzazione, per quanto attiene alla n. variabili dal 73 all'81% dopo 1 mese e dall'81 al 94% dopo 8 settimane di trattamento.

Risultati simili sono stati osservati anche nei pazienti con ulcera gastrica. La n., alla dose di 300 mg/*nocte* o di 150 mg *bid*, ha indotto la guarigione dell'ulcera in percentuali del tutto confrontabili alla ranitidina 150 mg *bid*, rispettivamente del 66, 65 e 66% dopo 4 settimane e del 90, 87 ed 87% dopo 2 mesi di trattamento. A differenza di quanto osservato nell'ulcera duodenale, l'apporto di fumo di sigaretta non si è correlato negativamente con l'esito della terapia.

Incoraggianti sono i risultati nella profilassi della recidiva ulcerosa. Nelle esperienze attualmente disponibili, limitate all'ulcera duodenale ed a periodi di 12 mesi, le percentuali di recidiva risultano essere del 19-24% a 6 mesi e del 28-34% al termine del periodo di osservazione.

Osservazioni ottenute da studi controllati, infine, sembrerebbero confermare l'utilità della n., a dosi elevate, nel trattamento a breve termine dell'esofagite da reflusso. Con lo schema di 300 mg *bid* si sono documentate percentuali di guarigione endoscopica variabili dal 40 al 64% dopo 6 settimane e dal 50 all'83% dopo 3 mesi di trattamento, significativamente superiori a quelle documentate con la dose di 150 mg *bid* o di 300 mg/*nocte*, il cui effetto è risultato, peraltro, non dissimile dal *placebo*.

**Effetti collaterali**

Nell'attuale esperienza il farmaco si è rivelato ben tollerato, con una percentuale complessiva di effetti collaterali (cefalea, astenia, dolore toracico, mialgia, sonnolenza, rinite, diarrea, prurito) pari al 2,5%, ma inferiore al *placebo* ed ai farmaci di confronto.

Tra i disturbi soggettivi segnalati con maggior frequenza rispetto al *placebo*, sono da ricordare nell'ordine: orticaria, sonnolenza, sudorazione. Scarsamente significative sono le alterazioni biochimiche segnalate, fra cui innalzamenti modesti e reversibili delle transaminasi e dell'uricemia.

Non è facile definire il ruolo della n. nell'attuale panorama terapeutico della malattia peptica. Le caratteristiche farmacodinamiche collocano il farmaco in una posizione intermedia tra cimetidina ed $H_2$-antagonisti di 2ª-3ª generazione. Rispetto a quest'ultimi, lo schema terapeutico consigliato di 300 mg/*nocte* presenta il vantaggio, teorico, di una importante attività inibitoria associata ad una durata d'azione limitata al periodo notturno, senza significative interferenze con l'*output* acido del giorno successivo. Pertanto per i sostenitori ad oltranza dell'importanza esclusiva dell'*output* acido notturno nella genesi dell'ulcera duodenale, il farmaco si presenta come più rispettoso della fisiologia gastrica e riduce i rischi, più teorici che pratici invero, di una prolungata acloridria gastrica. Tuttavia, alla luce delle più recenti esperienze circa l'importanza della inibizione dell'*output* acido delle 24 h o di quello diurno in particolare, ci sembra più corretto affermare che il farmaco non rappresenta che una ragionevole alternativa agli $H_2$-antagonisti, attualmente in commercio, nel trattamento a breve termine dell'ulcera duodenale, mentre ulteriori esperienze sono necessarie per verificarne l'efficacia e la tollerabilità nel trattamento profilattico dell'ulcera duodenale e nella terapia dell'ulcera gastrica e dell'esofagite peptica.

**Bibliografia**

Baldi F., Longanesi A., Ferrarini F., Michieletti G., *Nizatidine in gastroesophageal reflux disease: a review*, in Scarpignato C. ed., *Advances in Drug Therapy of Gastroesophageal Reflux Disease*. 1991, Karger, Bâle, pp. 1-7.
Cloud M. L., *Scand. J. Gastroenterol.*, 1987, **22** (Suppl. 136), 29-36.
Damman H. G., Gottlieb W. R., Walter T. A., Muller P., Simon B. *et al.*, *Scand. J. Gastroenterol.*, 1987, **22** (Suppl. 136), 56-60.
Knadler M. P., Bergstrom R. F., Callaghan J. T., Rubin A., *Drug Metab. Dispos.*, 1986, **14**, 175-182.
Morton D. M., *Scand. J. Gastroenterol.*, 1987, **22** (Suppl. 136), 1-8.
Price A. H., Brogden R. N., *Drugs*, 1988, **36**, 521-539.

GABRIELE BIANCHI PORRO E MARCO LAZZARONI

## N-METIL-D-ASPARTATO (NMDA)

Recenti studi hanno dimostrato che l'azione neuroeccitatoria svolta dall'ac. glutammico è mediata da almeno tre distinti recettori, individuabili dall'azione agonista selettiva dell'N-metil-D-aspartato, del kainato e del quisqualato. Nell'attuale terminologia questi recettori sono identificati, rispettivamente, come AA1, AA2 e AA3. I recettori per l'N-metil-D-aspartato (NMDA) appaiono distribuiti preferenzialmente nella corteccia cerebrale e nell'ippocampo, dove regolerebbero, in presenza di potenziali di depolarizzazione, l'apertura di canali ionici selettivi per il $Ca^{2+}$, il $Na^+$ e il $K^+$ con conseguente aumento dell'efficienza sinaptica dopo una stimolazione ad alta frequenza. Questo fenomeno, che va sotto il nome di *potenziamento a lungo*





Digitized by Google

*termine* (*long-term potentiation*), sarebbe coinvolto nei fenomeni di memorizzazione.

Lo sviluppo di farmaci attivi come antagonisti dei recettori dell'NMDA costituisce un importante obiettivo, tenuto conto che l'attivazione di tali recettori sembra svolgere un ruolo non secondario nella corea di Huntington, nelle manifestazioni convulsive dell'epilessia, nella patogenesi del danno cerebrale da ipossia, da ipoglicemia e da alcune neurotossine. Attualmente, una tale azione antagonista è attribuibile, oltre che ad alcuni derivati fosfonici, alla fenciclidina, agli oppiacei benzomorfani agonisti dei recettori *sigma* e al composto MK-801 (v.*).

V. anche: NEUROTRASMETTITORI*; NEUROTOSSINE*.

RED.

## NON-A, NON-B EPATITE [v. vol. X, col. 1229]

SOMMARIO



### Etiologia

Sono stati fino ad oggi identificati almeno 2 degli agenti causali dell'epatite non-A, non-B che sono stati denominati rispettivamente virus dell'epatite C (*Hepatitis C virus* = HCV) e virus dell'epatite E (*Hepatitis E virus* = HEV) (v. EPATITE DA VIRUS*).

HCV viene attualmente considerato come uno dei principali agenti dell'e. non-A, non-B post-trasfusionale, ed è stato, fino ad oggi, solo parzialmente caratterizzato: è un virus di piccole dimensioni (30-60 nm di diametro) la cui sensibilità al cloroformio fa supporre possieda una membrana di rivestimento di natura lipidica. Il genoma di HCV sarebbe costituito da una molecola di RNA monoelica, della grandezza approssimativa di 8,5 kbasi, che, in corso di replicazione, funzionerebbe da RNA messaggero. Sulla base di queste ancora limitate conoscenze, HCV è stato provvisoriamente collocato nella famiglia dei togavirus (v.*), cui appartengono virus animali (ad es. virus della febbre emorragica delle scimmie) che per modalità di trasmissione e proprietà biologiche somigliano molto ad HCV. Choo e Kuo, ricercatori della Chiron Corporation (California), hanno clonato, nel 1989, una delle proteine di HCV partendo dal plasma di uno scimpanzè precedentemente infettato con plasma di pazienti affetti da epatite non-A, non-B post-trasfusionale. Le proteine così ottenute sono state poi utilizzate per allestire un test immunoenzimatico per la ricerca di anticorpi anti-HCV (v. anche EPATITE DA VIRUS*).

Ancora molto limitate sono le conoscenze relative a HEV, l'unico agente virale che sia stato fino ad oggi correlato con l'e. non-A, non-B a trasmissione enterale. Studi eseguiti esaminando al microscopio elettronico campioni di feci raccolte da soggetti in fase acuta di malattia in corso di epidemia, e studi analoghi condotti in animali sperimentalmente infetti, hanno permesso di acquisire alcune informazioni relativamente alle caratteristiche morfologiche e biologiche del virus. Il virione di HEV ha una morfologia sferica, dimensioni dell'ordine di 32-34 nm, e un coefficiente di sedimentazione di 183S; non possiede una membrana di rivestimento e la superficie esterna presenta delle estroflessioni. L'infettività di HEV è ridotta o abolita da ripetuti congelamenti e scongelamenti, dal cloruro di cesio e dall'ultracentrifugazione.

HEV è stato provvisoriamente collocato nella famiglia dei calicivirus (v.*) e, recentemente (Reyes *et al.*, 1990) ne è stata prodotta e clonata una sequenza di DNA complementare (cDNA) a partire da virus ottenuto dalla bile di macachi della specie *Cynomolgus* sperimentalmente infettati con virus dell'e. non-A, non-B a trasmissione enterale. Questa molecola legherebbe specificamente una molecola di RNA complementare di circa 7,6 kbasi presente nel fegato delle scimmie infette; inoltre, una porzione della catena di cDNA sembrerebbe codificare per una RNA-polimerasi RNA diretta che è presente in HEV e in quasi tutti i virus a RNA in cui la molecola di acido nucleico è orientata positivamente. Il clone di cDNA prodotto identificherebbe inoltre, per ibridazione, sequenze complementari ottenute da pazienti, provenienti da diverse aree geografiche (Somalia, Borneo e U.R.S.S.) con e. non-A, non-B a trasmissione enterale. Questi risultati sembrerebbero individuare un unico virus quale agente etiologico dell'e. non-A, non-B a trasmissione enterale, anche se saranno necessari ulteriori studi per accertare la reale prevalenza dell'infezione da HEV in diverse popolazioni di soggetti.

### Epidemiologia

La recente produzione di un test per la ricerca degli anticorpi per l'epatite C ha permesso di realizzare alcuni studi di sieroprevalenza in diverse categorie di soggetti. Anticorpi anti-HCV sono stati dimostrati in più di 85% dei soggetti con e. non-A, non-B post-trasfusionale e nelle trasfusioni implicate nella trasmissione dell'infezione. Studi condotti in Germania e in Spagna (Roggendorf *et al.*, 1989; Esteban *et al.*, 1989) hanno evidenziato un'elevata prevalenza per HCV anche negli emofilici (64-79% di soggetti sieropositivi), e questo dimostrerebbe che il virus può essere trasmesso anche tramite l'infusione di concentrati di fattori della coagulazione. Minore sarebbe la percentuale di positivi per anticorpi anti-HCV tra gli emodializzati (6-20%), mentre un'altra categoria a elevato rischio per l'acquisizione dell'infezione risulta essere quella dei tossicodipendenti in cui sono stati dimostrati indici di sieropositività per HCV del 70% ed oltre.

Circa la possibilità di contrarre l'infezione attraverso vie di trasmissione diverse da quella trasfusionale, i dati ottenuti dagli studi sieroepidemiologici sembrerebbero escludere la via sessuale e il contagio nell'ambito familiare; di fatto, molto bassa sarebbe la sieroprevalenza per HCV sia negli omosessuali che nelle mogli di tossicodipendenti HCV-sieropositivi (Esteban *et al.*, 1989), mentre ancora non documentata, né da studi sperimentali su animali né da evidenze cliniche, è la possibilità di trasmettere l'infezione al feto o al neonato. Bassi sono anche gli indici di sieroprevalenza per HCV in categorie di soggetti con e. non-A, non-B ad andamento sporadico acquisita in comunità (15-18% in studi condotti negli U.S.A. e in Giappone). Infine, studi preliminari condotti in Giappone e in Italia hanno evidenziato un'alta prevalenza di anticorpi per HCV, non associata con la presenza di anticorpi per il virus dell'epatite B, in pazienti con epatocarcinoma.

Minori sono le conoscenze relative alla diffusione di HEV: epidemie di e. non-A, non-B a trasmissione enterale sono state documentate in India, U.R.S.S., Nepal e altri paesi del sud-est asiatico, in Sudan, Somalia e Messico. Lo studio delle modalità con cui è avvenuta la trasmissione del virus nel corso di queste epidemie indica acqua e cibi contaminati come più probabili fonti di contagio, e inoltre è stata documentata la possibilità della trasmissione intrafamiliare del virus tramite contatti personali. Caratteristica, che rimane tuttavia a tutt'oggi non spiegata, è l'elevata mortalità (fino al 40%, Bradley, 1990) associata all'infezione da HEV nelle donne in gravidanza.

Non esistono a tutt'oggi test commerciali per la determi-





Digitized by Google

nazione degli anticorpi diretti contro HEV anche se studi epidemiologici su piccoli gruppi di pazienti sono stati realizzati con un test di immunofluorescenza messo a punto a scopo di ricerca (Krawczynski, 1889). Da tali studi emerge che di 89 casi studiati nel corso di epidemie occorse in Africa, in Asia e in Messico, ben 88% possedevano anticorpi per HEV.

#### Diagnosi e prevenzione

Nel 1989 è stato messo a punto, come già detto, un primo test immunoenzimatico per l'evidenziazione di anticorpi diretti contro una proteina di HCV denominata C-100 3: questo test è ormai entrato nella pratica clinica della diagnostica differenziale delle e. non-A, non-B e nella selezione dei campioni di sangue da trasfondere. Dallo studio eseguito sulla dinamica della comparsa della risposta anticorpale per C-100 3, in corso di infezione acuta da HCV, è risultato che gli anticorpi diretti verso questa proteina compaiono dopo diversi mesi dall'esordio della sintomatologia clinica, tendono a persistere per un tempo definito (in media circa 4 anni) nei casi evoluti in guarigione, mentre sono presenti nella quasi totalità dei pazienti con infezione cronica da HCV (Alter *et al.*, 1989).

Per quanto riguarda lo *screening* delle trasfusioni, dai primi risultati dell'uso del test nei donatori di sangue e in pazienti con e. non-A, non-B post-trasfusionale è stato possibile mettere in evidenza una piccola percentuale di soggetti con transaminasi alterate e sieronegativi per HCV. Ciò potrebbe essere in relazione con una «fase finestra» che precede la sieroconversione per HCV nell'individuo di recente infetto, anche se non esclude la possibilità dell'esistenza di altri agenti di e. non-A, non-B post-trasfusionale diversi da HCV, ancora sconosciuti. In base a tali considerazioni, sebbene il test per la ricerca degli anticorpi per HCV, insieme allo *screening* sierologico per il virus dell'epatite B, sia regolarmente praticato nei centri trasfusionali al fine di prevenire le epatiti infettive da trasfusione, la determinazione degli indici biochimici sierici di epatiti (transaminasi ALT e AST) rimane un criterio complementare necessario per la selezione dei donatori di sangue.

Del tutto recentemente la Chiron Corporation statunitense ha prodotto un secondo test immunoenzimatico per la valutazione degli anticorpi per HCV in cui sono presenti, insieme a C-100 3, altri due antigeni del virus, C 33 e C 22, che sarebbero in grado di evidenziare una risposta anticorpale più precoce. L'uso di questo nuovo test permetterà di verificarne l'efficacia anche nella diagnosi precoce dell'infezione.

#### Terapia

In relazione all'impiego della terapia con l'interferone nell'epatite cronica attiva da virus B, trattamenti con interferone in via sperimentale sono stati condotti in pazienti con epatite cronica da virus C (Davis *et al.*, 1989; Di Bisceglie *et al.*, 1989). Il farmaco (interferone alfa) è stato utilizzato a dosi che, nei diversi studi, variavano da 3 a 1 milione di unità tre volte a settimana per circa 6 mesi; dai risultati emerge che, seppure siano stati ottenuti, in alcuni studi, una significativa riduzione dei livelli delle transaminasi sieriche e il miglioramento del quadro istologico nel 50% circa dei pazienti trattati, una recrudescenza di malattia è stata osservata nella metà circa dei pazienti dopo 6 mesi dalla sospensione del trattamento. Questi dati, se da un lato sembrano indicativi dell'efficacia dell'interferone nel trattamento delle epatiti croniche da HCV, indicano, d'altro lato, che gli schemi terapeutici non sono ancora definiti non solo in termini di durata e modalità del trattamento ma anche in termini di indicazione ad esso. In ogni caso, pur in assenza di una strategia terapeutica perfettamente definita, allo stato attuale i pazienti con epatite cronica attiva da HCV dovrebbero essere inviati a centri di riferimento che partecipino a studi controllati sull'interferone e sulle altre strategie terapeutiche.

#### Bibliografia


Alter H. J., Purcell R. H. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1989, **321** (22), 1494-1500.
Bradley D. W., *Br. Med. Bull.*, 1990, **46**, 442-461.
Choo Q.-L., Kuo G. *et al.*, *Science*, 1989, **244**, 259.
Cuthbert J. A., *Am. J. Med. Sci.*, 1990, **299** (5), 346-354.
Davis G. L., Balart L. A. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1989, **321** (22), 1501-1506.
Di Bisceglie A. M., Martin P. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1989, **321** (22), 1506-1510.
Esteban J. I., Esteban R. *et al.*, *Lancet*, 1989, **ii**, 294-297.
Esteban J. I., Gonzales J. M. H. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1990, **323** (16), 1107-1112.
Krawczynski K., *Liver Update*, 1989, **3**, 5.
Reyes G. R., Purdy M. A. *et al.*, *Science*, 1990, **247**, 1335.
Roggendorf M., Deinhardt F. *et al.*, *Lancet*, 1989, **ii**, 324.
Zucherman A. J., *Br. Med. J.*, 1989, **299**, 871.
Zucherman A. J., *Br. Med. J.*, 1990, **300**, 1475.


LOREDANA SARMATI E GIOVANNI ROCCHI

## NOOTROPI FARMACI: v. PIRACETAM (XI, 2154).

## NORWALK VIRUS

#### Generalità

Il virus Norwalk [v. N.] fu identificato nel 1972 da Kapikian *et al.*, con l'ausilio della microscopia elettronica, nelle feci di soggetti affetti da gastroenterite acuta nel corso di una epidemia avvenuta a Norwalk (Ohio). A tutt'oggi questo agente patogeno non ha trovato una classificazione definitiva nell'ambito delle famiglie virali note, anche in relazione alle estreme difficoltà incontrate nella sua propagazione *in vitro*. Particelle morfologicamente simili a quelle identificate da Kapikian *et al.* furono poi riconosciute, in epoche più recenti, quali agenti etiologici di gastroenteriti virali ad andamento epidemico e sono state variamente denominate anche in relazione alle zone geografiche di insorgenza delle epidemie; sono stati a tutt'oggi riconosciuti i virus Hawaii, il virus Montgomery County, il virus Ditchling, il virus «W», il virus Taunton Parramatta, i virus Marin County e Snow Mountain. Questi presentano molte caratteristiche comuni al v. N. quali la morfologia, le dimensioni e la mancanza di substrati cellulari sensibili per una loro propagazione *in vitro*; inoltre per nessuno di loro sono ancora state acquisite conoscenze tali da permettere una corretta e definitiva classificazione: pertanto sono stati raccolti in un gruppo creato *ad hoc* e denominato *virus del gruppo Norwalk*, in relazione all'agente virale identificato per primo, con caratteristiche comuni a tutti gli altri sopra elencati.

#### Caratteristiche biologiche

I virus del gruppo Norwalk hanno dimensioni comprese tra 26 e 34 nm di diametro, una simmetria cubica e una densità in cloruro di cesio compresa tra 1,34 e 1,41 g/ml; sono privi di membrana di rivestimento. L'impossibilità ad ottenere, fino ad oggi, informazioni relative alla composizione del genoma dei virus appartenenti al gruppo ha impedito una loro classificazione, anche se almeno per il v. N. e per quello Snow Mountain è stata riconosciuta una somiglianza con virus della famiglia dei calicivirus (v.*) sulla base del



Digitized by Google

numero e del peso molecolare dei polipeptidi costitutivi del virione.

Studi condotti con sieri immuni avrebbero dimostrato la possibilità di correlazione antigenica tra il v. N. e quello Marin County, mentre gli altri virus appartenenti al gruppo non possiederebbero antigeni comuni.

### Epidemiologia

Studi sieroepidemiologici hanno dimostrato che l'infezione sostenuta dai virus del gruppo Norwalk è dimostrabile nella popolazione di tutti i continenti, fatta eccezione per la piccola località di Gambaro in Equador, in cui gli indiani, che vivono completamente isolati dal resto della popolazione, risultano non possedere anticorpi neppure in età adulta.

Le forme di gastroenterite sostenute dal v. N. si verificano in genere in epidemie nell'ambito di piccoli gruppi in comunità chiuse (famiglie, scuole, istituti, etc.) e in genere nei mesi più freddi dell'anno (autunno-primavera), anche se alcuni studi avrebbero dimostrato che, perlomeno negli U.S.A., epidemie di gastroenterite sostenute da questo virus si hanno in ogni stagione dell'anno.

I virus del gruppo Norwalk sarebbero gli agenti causali del 65% delle forme di diarrea ad etiologia «non-batterica» diagnosticate in soggetti adulti negli U.S.A., mentre nei paesi in via di sviluppo i tassi di incidenza dell'infezione (valutata in termini di presenza degli anticorpi specifici) da v. N. tra i bambini variano dal 29% (Bangladesh) al 35% (San Blas Islands, Panama). Dagli studi di sieroprevalenza per v. N. e i rotavirus (v.; v.*) emerge che esiste una marcata differenza nell'età di acquisizione degli anticorpi specifici per le due diverse categorie di virus, almeno per quanto risulta dagli studi sieroepidemiologici condotti in paesi industrializzati. Infatti, mentre gli anticorpi per il v. N. vengono acquisiti molto tardi in età infantile e prevalentemente in età adulta (50% dei soggetti adulti sopra i 50 anni di età), gli anticorpi diretti contro i rotavirus sono presenti in più del 90% dei bambini di età superiore ai 3 anni. Tali dati permettono di giungere alla conclusione che probabilmente, almeno nei paesi a più elevato indice di sviluppo, il v. N. può essere considerato come una delle cause della gastroenterite ad andamento epidemico negli adulti, piuttosto che non nei bambini molto piccoli. Uno dei pochi studi condotti in paesi come il Bangladesh dimostrerebbe che la sieroprevalenza per rotavirus nei bambini è nettamente superiore a quella per il v. N., anche se gli anticorpi diretti verso quest'ultimo sono presenti in una discreta percentuale di soggetti in età infantile.

### Risposta immune e alterazioni anatomiche in corso di infezione

Sono state identificate due forme di risposta immune nei confronti del v. N. che si differenziano tra loro per la durata più o meno lunga della resistenza che determinano nei confronti di eventuali reinfezioni; la forma di resistenza a breve termine protegge per un arco di 6-14 settimane, mentre la resistenza a lungo termine avrebbe una durata non precisamente definita ma comunque superiore all'anno. Le ragioni per cui individui diversi sono in grado di sviluppare l'uno o l'altro tipo di risposta immune nei confronti del v. N. non è stata ben compresa, anche se è stato ipotizzato che probabilmente sia la capacità di produrre un'adeguata risposta di tipo IgA specifica a livello intestinale a garantire una migliore protezione nei confronti del virus; è probabile inoltre che esista una maggiore suscettibilità individuale all'infezione legata alla presenza di un recettore specifico per il virus sulle cellule dell'epitelio intestinale, l'espressione del quale sia geneticamente determinata.

L'infezione sostenuta dai virus del gruppo Norwalk è stata ampiamente studiata in volontari sani. Le lesioni anatomopatologiche in corso di infezione sono caratterizzate da alterazioni a carico principalmente della mucosa del digiuno e in parte anche a carico dello stomaco e del colon-retto.

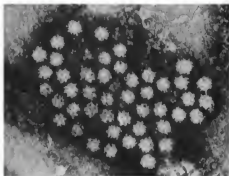



Fig. 1. Particelle virali di v. N. visualizzate tramite immunoelettronmicroscopia da estratti di feci fatti reagire con un siero immune. (*Da Kapikian et al., 1972*).

A livello microscopico è possibile evidenziare la completa scomparsa dei villi intestinali e l'infiltrazione da parte dei polimorfonucleati neutrofili della lamina propria. Tali alterazioni anatomiche compaiono entro 24 h dall'infezione e si risolvono spontaneamente nell'arco di 2 settimane.

### Quadro clinico e diagnosi

Dopo un periodo di incubazione molto breve, generalmente non superiore alle 48 h dall'avvenuta infezione con i virus del gruppo Norwalk, si assiste alla comparsa di vomito e diarrea spesso accompagnati da mialgie e cefalea e, in una percentuale variabile di casi, da febbre di modico grado. Le scariche diarroiche sono in genere di numero limitato e non superiore alle 4-8 evacuazioni nelle 24 h.

La diagnosi etiologica dell'infezione è spesso esclusivamente presuntiva e sospettata sulle basi di conoscenze epidemiologiche relative all'insorgenza di focolai epidemici di gastroenterite.

Pur esistendo metodiche, quali l'immunoelettronmicroscopia (fig. 1), la radioimmunologia e sistemi immunoenzimatici, per l'evidenziazione, in campioni di feci, dei diversi virus appartenenti al gruppo Norwalk, tuttavia tali tecniche vengono esclusivamente applicate a scopo di ricerca nell'ambito di studi di patogenesi ed epidemiologia dell'infezione.

La malattia tende a risolversi spontaneamente in genere in breve tempo (48-72 h) senza lasciare reliquati; raramente viene richiesto l'uso di soluzioni reidratanti o di antiemetici.

#### Bibliografia

Blacklow N. R., Dolin R., Feson D. S. *et al.*, *Ann. Intern. Med.*, 1972, **76**, 993-1000.

Dolin R., *Norwalk and Related Agents of Gastroenteritis*, in Mandell G. L., Douglas R. G., Bennett J. E., *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 1990, Churchill-Livingstone, New York-Edinburgh, p. 1415-1419.

Johnson P. C., Mathewson J. J., DuPont H. L. *et al.*, *J. Infect. Dis.*, 1990, **161**, 18-21.

Kapikian A. Z. *et al.*, *J. Virol.*, 1972, **10**, 1075.

Kapikian A. Z., Chanock R. M., *Viral Gastroenteritis*, in Evans A. S., *Viral Infections in Human*, 3 ed., 1989, p. 293-340.

LOREDANA SARMATI





Digitized by Google

## NUCLEICI ACIDI [v. vol. X, col. 1250]

SOMMARIO



### Struttura del DNA e controllo dell'espressione genica

Il DNA, o acido desossiribonucleico, è la macromolecola depositaria dell'informazione genetica in tutti gli organismi viventi, che serve ad ogni cellula per crescere, dividersi, rispondere agli stimoli esterni e differenziarsi. Nei virus a RNA, è quest'ultima molecola che è responsabile del trasporto dell'informazione genetica. Negli eucarioti il DNA è organizzato in cromosomi, particolari strutture nucleoproteiche, il cui numero è variabile a seconda del particolare organismo. In essi il DNA è avvolto attorno a dei complessi ottamerici costituiti dagli istoni H2A, H2B, H3 e H4 e interagisce inoltre con un altro istone, chiamato H1. Oltre agli istoni tutta una serie di altre proteine sono permanentemente impegnate a interagire con il DNA.

Non tutto il DNA è, in senso stretto, depositario di informazioni genetiche. Non tutto il DNA, cioè, è capace di essere tradotto in proteine. Anzi i geni, quei tratti di DNA la cui sequenza di basi è traducibile in proteine mediante il codice genetico universale, occupano negli organismi superiori solo una piccola parte dell'intera lunghezza del DNA. Questa parte è al momento difficilmente valutabile (lo sarà quando il progetto «genoma umano», cioè il sequenziamento dell'intero DNA dell'*Homo sapiens*, sarà portato a termine) ma non dovrebbe superare, negli esseri umani, il 10% dell'intero DNA. In altri termini nel genoma umano, che è di circa 3 miliardi di coppie di basi, non più di 300 milioni di coppie di basi servirebbero per produrre proteine. Se si prende come lunghezza media di una proteina quella corrispondente a 500 aminoacidi, per ognuna di esse servono 1500 coppie di basi. Con il 10% del genoma si farebbero quindi circa 200.000 proteine diverse, un numero probabilmente superiore alla realtà. A cosa serve il restante 90% e più del DNA? I ricercatori oggi sono sempre più convinti che questo DNA «extragenico» abbia molte funzioni.

Una parte di questo DNA è costituito dagli *introni*, quei tratti senza informazioni genetiche, che vengono trascritti insieme agli *esoni* per dar luogo al RNA eterogeneo nucleare (hnRNA) il cui smontaggio (*splicing*) all'interno del nucleo porta poi alla formazione del vero RNA messaggero, utilizzato poi nel citoplasma per la sintesi proteica (v. PROTEINE, *biosintesi delle proteine*, XII, 1336). È opinione diffusa che gli introni servano a separare nel DNA domini strutturali proteici (codificati negli esoni) e che questa separazione sia il risultato (e anche la premessa) di un processo che l'evoluzione ha usato (e può ancora usare) per la costruzione di nuove proteine unendo, mediante ricombinazione, esoni codificanti per altre proteine.

Un'altra parte di questo DNA è certamente finalizzato alle funzioni di controllo dell'espressione genica. Si intende per *controllo* la capacità da parte di una cellula di far avvenire un particolare processo (la sintesi di una proteina) al momento giusto durante il ciclo cellulare, di avere certe proteine (e solo loro e non altre) nella quantità giusta e nella localizzazione giusta all'interno della cellula. In più a questo controllo è legato il differenziamento (v.; v.*) cellulare, la capacità, cioè, da parte di una cellula embrionale

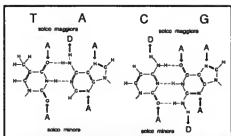



Fig. 1. Possibilità di formazione di legami idrogeno da parte delle coppie di basi AT e GC in una doppia elica. *Le frecce* indicano i siti accettori (A) e donatori (D) di legami idrogeno.

di dar vita a cellule molto diverse tra loro. Queste cellule sono diverse perché sono in grado di attivare nello stesso genoma geni diversi.

Gran parte di questa regolazione avviene a livello dell'inizio della trascrizione.

Come avviene questo processo? Il presupposto è che nel DNA per ogni gene ci siano delle sequenze regolatrici che devono essere identificate in maniera univoca rispetto alle analoghe sequenze di migliaia di altri geni. Questa identificazione è fatta da proteine sulla base della diversità di struttura delle sequenze regolatrici. La diversità di struttura può essere costituita semplicemente da una particolare sequenza di basi che può essere riconosciuta in maniera specifica da una proteina. Infatti, come mostra la fig. 1, le coppie di basi AT (adenina-timina) e GC (guanina-citosina) nella doppia elica del DNA espongono nel solco maggiore e minore gruppi accettori (A) e gruppi donatori (D) di legami idrogeno. La formazione di un minimo di due legami idrogeno con questi gruppi permette di identificare senza ambiguità le coppie AT rispetto alle coppie GC. Si vedrà più avanti che il solco maggiore è il più adatto, per ragioni steriche, a questo tipo di interazione.

In aggiunta a questo tipo di meccanismo l'informazione contenuta nella sequenza può essere espressa, e quindi riconosciuta, mediante una particolare conformazione spaziale che differisca per qualche particolarità da tutte le altre assunte dal resto del DNA.

Ovviamente i due meccanismi possono essere (e sono) usati contemporaneamente.

Nel 1954 Crick e Watson proposero la struttura del DNA per la quale divennero famosi e ottennero il premio Nobel (v. NUCLEICI ACIDI, X, 1255, fig. 5). Questa struttura, verificata in seguito con una serie di metodi sperimentali, prese il nome di *struttura B* e tutti i ricercatori sono concordi nel pensare che essa sia la struttura predominante del DNA *in vivo*. Ma è essa l'unica possibile?

Già molti anni fa lavorando con fibre ottenute da DNA sia sintetici che naturali, sottoposte a condizioni variabili di umidità e contenuto di sali, alcuni ricercatori avevano messo in evidenza la stabilità di strutture alternative di catene polinucleotidiche, come le *strutture* cosiddette *A* o *C*. Più recentemente, da quando cioè è possibile sintetizzare in laboratorio catene corte di DNA a sequenza di basi preordinata, la conoscenza delle possibili strutture del DNA si è enormemente ampliata, facendo anche intravedere il possibile ruolo biologico che alcune di queste strutture possiedono.

Il DNA naturale è sempre presente *in vivo* sotto forma di doppio filamento con l'accoppiamento tra le basi previsto a suo tempo da Crick e Watson e poi confermato da tutti i dati sperimentali.



Digitized by Google

La catena polinucleotidica può essere rappresentata dalla ripetizione dell'unità fondamentale riportata in fig. 2.

I vincoli contenuti in questa struttura sono:

a) la planarità degli anelli delle basi puriniche e pirimidiniche;

b) la chiusura dell'anello del desossiriboso.

Pur con questi vincoli, la possibilità della libera rotazione intorno ai legami semplici, indicata dalle frecce in fig. 2, permette all'unità fondamentale, e quindi alla catena, diverse conformazioni, definite solo dalle interazioni attrattive e repulsive tra gli atomi non direttamente legati e dalle interazioni con il mezzo (il solvente) nel quale la catena si trova disciolta. Il gran numero di conformazioni possibili per una singola catena polinucleotidica è drasticamente ridotto quando due catene complementari si appaiano mediante legame idrogeno tipo Crick e Watson. Incidentalmente gli accoppiamenti tipo Crick e Watson (v. NUCLEICI ACIDI, X, 1256, fig. 6) sono solo due delle 28 teoriche possibilità che le quattro basi possono scegliere per legarsi a coppie, ma sono le uniche due che permettono, all'interno di una qualsiasi struttura ordinata del DNA, una perfetta interscambiabilità tra i quattro accoppiamenti AT, TA, GC e CG, senza dover mutare la struttura stessa (notare infatti nella già citata fig. 6 della voce NUCLEICI ACIDI

la equivalenza della distanza tra i C1' degli zuccheri nei due tipi di accoppiamenti e degli angoli agli stessi atomi).

All'interno delle conformazioni ordinate possibili, alcune di esse sono state determinate sperimentalmente mediante diffrazione di raggi X da parte di fibre di DNA orientate. Tra le più note sono le conformazioni chiamate A, B e C, che sono mostrate nelle figg. 3, 4 e 5.

Come si può facilmente vedere dalle figure le tre conformazioni differiscono tra loro per alcuni aspetti appariscenti (oltre che per altri non così facilmente discernibili):

a) il diametro del cilindro, che poi è in relazione con il numero di coppie di basi necessarie a far compiere alla doppia elica un giro completo intorno al proprio asse (11, 10 e 9,3 per le strutture A, B e C, rispettivamente);

b) l'inclinazione dei piani, su cui giacciono le coppie di basi, rispetto all'asse della doppia elica;

c) l'ampiezza e la profondità dei due solchi, il maggiore e il minore, cioè dei due canali elicoidali che solcano la superficie del cilindro.

La stabilità di queste diverse conformazioni dipende, come già detto, sia dalla sequenza delle basi sia dalle particolari condizioni

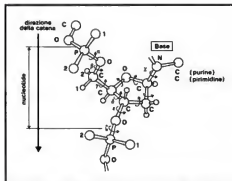



Fig. 2. Numerazione degli atomi e definizione degli angoli di torsione per una catena polidesossinucleotidica. (*Da W. Saenger, 1983*).

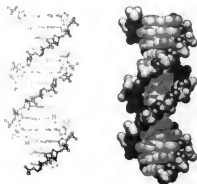



Fig. 4. Struttura B del DNA. (*Da W. Saenger, 1983*).

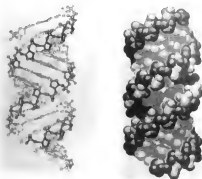



Fig. 3. Struttura A del DNA. (*Da W. Saenger, 1983*).

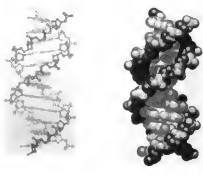



Fig. 5. Struttura C del DNA. (*Da W. Saenger, 1983*).



Digitized by Google

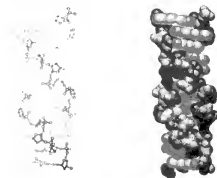



Fig. 6. Struttura Z del DNA. (*Da W. Saenger, 1983*).

di temperatura e solvente nelle quali si trova il DNA. In altri termini, preso un tratto di DNA con una sua particolare sequenza di basi, è possibile, variando temperatura e/o solvente, far cambiare conformazione al tratto di catena. Nel caso di variazione del solvente si può dire che il cambiamento di struttura è favorito perché nella nuova conformazione il tratto di DNA interagisce meglio con il solvente di quanto non faccia la vecchia conformazione. In termini termodinamici si dice che la nuova conformazione permette il raggiungimento di una energia libera del sistema che è minore di quella corrispondente alla vecchia conformazione.

C'è un significato biologico in queste conclusioni, per lo più ricavate da sistemi *in vitro*, dove è possibile cambiare a piacere temperatura e solvente? Il significato c'è comunque, sia perché nei DNA naturali ci sono tratti a sequenze particolari che preferiscono stabilizzare strutture meno comuni, come la A o la C; sia perché, pur non potendosi *in vivo* cambiare il mezzo solvente, e, raramente, la temperatura, è possibile avere nella cellula, in determinati momenti del suo ciclo, la presenza di particolari proteine che interagiscono preferenzialmente con certi tratti di DNA a struttura diversa dalla B e quindi favoriscono, con la loro interazione, la trasformazione da una conformazione ad un'altra di un tratto di DNA, innescando così un processo definito, come l'attivazione, o la disattivazione di un gene. Vedremo più avanti esempi precisi in merito.

Recentemente, grazie alla messa a punto di strumentazioni che sono in grado di sintetizzare automaticamente catene di DNA, lunghe fino ad alcune decine di basi, a sequenza predeterminata, è stato possibile cristallizzare mini doppie eliche e quindi determinarne la struttura mediante diffrazione dei raggi X con una precisione molto più grande di quanto non sia possibile con l'uso delle fibre.

La prima struttura ad essere determinata con questo metodo è stata quella della sequenza $(CGCGCG)_2$ e con grande sorpresa dei ricercatori essa è risultata essere una doppia elica ad avvolgimento sinistrorso, cioè contrario a quello determinato per le strutture A, B e C.

Questo tipo di struttura, a cui è stato assegnato il nome di *conformazione Z* (fig. 6), è risultato stabile, in particolari condizioni, per le sequenze alternate purina-pirimidina (con l'esclusione della sequenza AT). In altri termini se in un DNA naturale c'è un tratto che ha una sequenza alternata, esso, in condizioni di stress topologico (v. sotto), o in presenza di particolari ioni o proteine, può assumere una conformazione Z. La struttura Z, oltre ad avere senso di avvitamento opposto alle altre strutture possibili del DNA, ha anche la caratteristica di essere una struttura molto al-

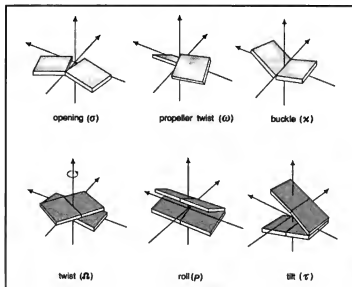



Fig. 7. Angoli di rotazione relativi a due basi in una coppia (*parte superiore*) o a due coppie di basi adiacenti (*parte inferiore*). (*EMBO J., 1989, 8, 1-4*).

lungata e «magra», con 12 coppie di basi per giro di elica e con un'alta densità di carica negativa.

Le conformazioni riportate nelle figg. 3-6 sono conformazioni regolari. Con questo si vuole intendere che la intera doppia elica può essere idealmente ottenuta per semplice rotazione e traslazione di una coppia di basi (o di due coppie adiacenti nel caso della struttura Z). In altre parole le strutture A, B, C e Z sono strutture ideali (o medie) che sono indipendenti dalla sequenza delle basi. Nella realtà, invece, come hanno dimostrato le strutture, ottenute sperimentalmente ai raggi X, di cristalli di mini doppie eliche con diverse sequenze, ogni sequenza di basi ha la sua «personalità» più o meno spiccata. Poiché la struttura è definita dalla minimizzazione dell'energia libera del sistema, questo obiettivo può essere raggiunto facendo compiere localmente agli atomi delle basi o degli zuccheri, spostamenti o rotazioni più o meno marcate, che dipendono dalla natura delle basi e quindi dalla loro sequenza. In fig. 7, a titolo di esempio, sono riportati i tipi di spostamenti o rotazioni che una o due coppie di basi, rappresentate nella figura da tavolette, possono avere. Per inciso va detto che la interazione che più contribuisce a stabilizzare una qualsiasi struttura a doppia elica è lo *stacking*, o interazione verticale, tra le coppie di basi. Questa interazione è di gran lunga più efficace dei legami idrogeno tra le coppie di basi, per cui la maggiore stabilità degli acidi nucleici contenenti GC rispetto a quelli contenenti AT non è dovuta ai 3 invece che ai 2 legami idrogeno per coppia di basi, ma ad una molto più grande interazione di *stacking* tra le coppie di basi GC rispetto a quella delle coppie AT. Poiché questa interazione dipende dalla geometria relativa delle due coppie di basi adiacenti, è chiaro che coppie diverse aggiustano questa geometria per interagire meglio e quindi portano a deformazioni o inomogeneità nella struttura locale del DNA che possono costituire il bersaglio di interazioni esclusive da parte di alcune proteine specifiche.

**DNA superspiralizzato**

Il DNA *in vivo* è quasi sempre in forma superspiralizzata (o superavvolta). La *superspiralizzazione del DNA* consiste nell'assunzione da parte dell'asse immaginario della doppia elica del DNA di un ulteriore avvitamento elicoidale, come quello assunto dal filo dell'apparecchio telefonico se nel filo stesso immaginiamo di vedere la doppia elica del DNA.

La superspiralizzazione è la conseguenza di due possibili situazioni (presenti entrambe negli eucarioti): 1) l'avvolgimento del DNA intorno a proteine specifiche, con la formazione di complessi nucleoproteici, come nei nucleosomi (v. NUCLEOSOMA, X, 1292); 2) la presenza di strutture chiuse nel DNA. Esempi di strutture chiuse sono i genomi procariotici, i plasmidi, i DNA dei mitocondri e dei cloroplasti. Anche il DNA degli organismi eucariotici superiori è organizzato in strutture chiuse, anche se non circolari: la cromatina infatti è organizzata in anse, lunghi tratti di DNA attaccati alla matrice proteica in due punti, distanti tra loro decine di migliaia di coppie di basi.

In che modo una struttura chiusa può dar luogo alla superspiralizzazione del DNA?

Immaginiamo di avere un DNA lineare, lungo 420 coppie di basi, nella normale struttura B, con 10 coppie di basi per giro di elica. Avremo quindi 42 avvitamenti destrorsi. Tale struttura viene definita rilassata.

Se prendiamo i terminali di questo DNA e li uniamo tra loro, avremo sempre un DNA rilassato ma con struttura chiusa, o circolare. Se, invece, prima di unire i terminali del DNA lineare, effettuiamo un'opera di svitamento della doppia elica ad uno dei due terminali per un totale di 6 giri potremo avere due possibilità: o un DNA rilassato, ma con un tratto di 60 coppie di basi non appaiate con legami idrogeno (in conformazione aperta, disordinata), oppure un DNA integro dal punto di vista degli accoppiamenti e dei legami idrogeno, con la sua normale struttura B, ma con l'asse della doppia elica che compie nello spazio un percorso elicoidale. In altri termini lo svitamento, che era stato indotto prima della successiva chiusura, viene recuperato ma a spese di un avvitamento dell'intera doppia elica, che si dice così superspiralizzata.

La superspiralizzazione risulta di segno negativo se il DNA chiuso è precedentemente svitato, di segno positivo se il DNA è precedentemente avvitato. Matematicamente il sistema può essere descritto da una semplice equazione $L = T + W$, dove $L$ = numero di legame, $T$ = numero di avvolgimento e $W$ = numero di contorcimento.

Nei DNA chiusi il numero di legame, L, è il numero di volte con cui uno dei due filamenti del DNA si avvolge intorno all'altro. Se il DNA è chiuso L è una grandezza invariante: per cambiare L bisogna tagliare un filamento e farlo avvolgere o svolgere una o più volte intorno all'altro, riannodando poi gli estremi del taglio. L è positivo se l'avvolgimento di un filo intorno all'altro è destrorso, negativo se sinistrorso.

Il numero di avvolgimento, T, nel DNA rappresenta il numero di giri della doppia elica, positivo se l'elica è destra, negativo se è sinistra.

Il numero di contorcimento, W, rappresenta il numero di giri che l'asse immaginario della doppia elica compie (superspiralizzazione).

La fig. 8 rappresenta sinteticamente quanto detto. Nella parte superiore della figura si vede un DNA lineare con 420 coppie di basi (42 giri di doppia elica destrorsa di tipo B, con 10 coppie di basi per giro). Se questo DNA lineare viene chiuso senza preventivi avvitamenti o svitamenti si dà origine alla forma circolare rilassata con $L = 42$, $T = 42$ e $W = 0$ (non c'è superspiralizzazione). Nella parte inferiore lo stesso DNA lineare, prima di essere circolarizzato, viene svitato di 6 giri. Le due strutture che si ottengono sono quella rilassata, a sinistra, con $L = 36$, $T = 36$ e $W = 0$ (ma con un tratto a filamenti staccati), e quella superspiralizzata, a destra, con $L = 36$, $T = 42$ e $W = -6$. Ambedue sono stati possibili: la prevalenza di uno dei due stati sull'altro dipende dal contenuto energetico rispettivo. Se l'energia che si guadagna nel far accoppiare i due filamenti del tratto di DNA «fuso» è superiore all'energia necessaria a superspiralizzare il DNA chiuso, quest'ultimo stato è preferito (il che avviene normalmente). In altre parole si può dire che lo stato superspiralizzato è uno stato che ha accumulato energia, che possiede stress topologico (contrapposto allo stato rilassato): tale energia può essere spesa per aprire un tratto di DNA. È come se i due stati rappresentati nella parte inferiore della figura fossero in equilibrio tra loro, prevalendo quello dei due ad energia minore nelle condizioni date.

Sapendo che l'apertura dei due filamenti del DNA è una condizione necessaria per i processi di replicazione e trascrizione, si può capire come la superspiralizzazione possa essere un mezzo naturale per facilitare, o addirittura rendere possibili, quei processi. Alternativamente si può pensare che la replicazione e la trascrizione, a causa dell'apertura del DNA che deve avvenire man mano che il processo va avanti, producano superavvolgimento.

Ma come avvengono *in vivo* i processi di svitamento e avvitamento, a loro volta necessari per la superspiralizzazione? A questo provvedono appositi enzimi chiamati *topoisomerasi*.

Le *topoisomerasi I* utilizzano come substrato il DNA superspiralizzato negativamente per ridurne il numero di contorcimento, tagliano cioè uno dei due filamenti del DNA chiuso: il filamento tagliato può girare intorno all'altro una volta e poi lo stesso enzima richiude il taglio. Per compiere questo lavoro la topoisomerasi I non ha bisogno di energia. L'obiettivo finale della topoisomerasi I è l'ottenimento di un DNA rilassato.

Le *topoisomerasi II*, o *girasi*, invece inducono la superspiralizzazione negativa o riducono quella positiva. Poiché lo stato superspiralizzato è ad energia più elevata le topo-





Digitized by Google

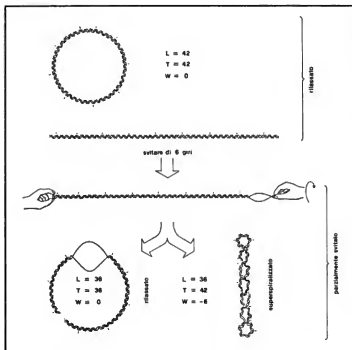



Fig. 8. Descrizione della relazione tra numero di legame (L), numero di avvolgimento (T) e numero di contorcimento (W). (*Da W. Saenger, 1983, ridisegnata*).

isomerasi II necessitano di energia (consumano ATP) ed effettuano il lavoro tagliando entrambi i filamenti del DNA chiuso.

La superspiralizzazione, oltre che favorire l'apertura della doppia elica nei processi di trascrizione, può essere anche decisiva per l'assunzione da parte di tratti del DNA di strutture diverse da quella classica B. Non dimentichiamo che le varie strutture (per es. A, C, Z) si differenziano tra loro per il numero di coppie di basi per giro di doppia elica.

Un DNA svitato, come quello rappresentato nella parte inferiore della fig. 8, può dar luogo a diversi altri stati, oltre a quelli rappresentati nella stessa figura. Condizione per la loro esistenza è che venga rispettata la relazione L = T + W. Se L = 36, come nel caso della figura, qualsiasi combinazione T + W che sia uguale a 36 è topologicamente accettabile. Si tenga presente che T è legato alla particolare conformazione (o somma di conformazioni) assunta dal DNA (per es. se le 420 coppie di basi della figura fossero in conformazione A, T sarebbe uguale a 420/11 = 38, invece di 42 corrispondente alla conformazione B). Particolarmente importanti sono queste considerazioni per la struttura Z, che è sinistrorsa e quindi possiede un valore di T negativo. Nell'esempio della figura quindi, il tratto con i due filamenti aperti potrebbe essere rimpiazzato da una frazione di conformazione B (T positivo) e da una frazione di conformazione Z (T negativo) in rapporto tale che il T totale sia uguale a zero, come il T della conformazione aperta. Ovviamente perché questo avvenga ci devono essere le condizioni topologiche (DNA superavvolto) ma anche le condizioni chimiche, cioè il tratto che assume la conformazione Z deve avere una sequenza di basi alternata purina-pirimidina, altrimenti la energia persa nella variazione conformazionale sarebbe troppo elevata. Tutto questo è stato verificato sperimentalmente in alcuni sistemi *in vitro*, anche se sistemi *in vivo* modificati opportunamente hanno dimostrato che l'uso di questi meccanismi è possibile. È dubbio ancora, nel caso specifico della struttura Z, quanto un meccanismo di questo genere sia usato naturalmente nei sistemi biologici.

In alcuni casi lo stress accumulato nei DNA superavvolti porta alla formazione di particolari strutture, dette *anse cruciformi*. Questo è possibile quando si è in presenza di *sequenze* di DNA dette *palindromiche*, sequenze che nello stesso filamento sono cioè autocomplementari (fig. 9). Dal punto di vista topologico le anse cruciformi contribuiscono con un T = 0, come se il DNA fosse denaturato. Nonostante le anse cruciformi siano state visualizzate e riscontrate sperimentalmente, c'è molto dibattito tra i ricercatori sulla loro esistenza *in vivo* e sulla loro eventuale funzione biologica. Un'altra struttura provocata dallo stress topologico è la tripla elica (v. sotto).

**Proteine che si legano a specifiche sequenze di DNA**

Per l'attivazione o la repressione dei geni sono necessarie alcune proteine specifiche che si legano ad elementi di DNA in dipendenza della loro sequenza e/o struttura. Queste proteine, che hanno assunto il nome generico di *fattori*





Digitized by Google

Fig. 9. Il DNA superavvolto può trasformarsi in DNA rilassato con zone aperte (specie se ricche in AT). Se questi tratti hanno sequenze ripetute invertite (palindromi) si possono formare strutture cruciformi.

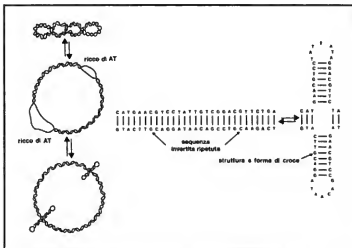
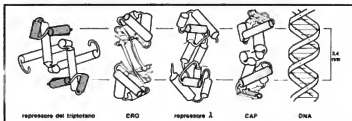



Fig. 10. Esempi di proteine che interagiscono con il DNA della famiglia *helix-turn-helix*. (*Da B. Alberts et al., 1989*).

*di trascrizione*, sono organizzabili in famiglie a seconda dei motivi strutturali comuni che possiedono e che le rendono capaci di interagire con il DNA (e, in qualche caso, anche tra loro).

Le proteine di questo tipo che sono note (molte sono ancora da scoprire, dato il basso numero di copie per cellula), sono state raggruppate nel seguente modo.

a) Proteine che presentano un motivo ricorrente del tipo elica-ripiegatura-elica (*helix-turn-helix*). Esse si presentano come dimeri disposti in maniera simmetrica con un asse binario in cui alcuni tratti elicoidali, rappresentati come cilindri nella fig. 10, per il loro orientamento nello spazio e per la loro relativa distanza, sono in grado di inserirsi lungo i solchi larghi della doppia elica del DNA. All'interno di questa geometria generale i residui aminoacidici appartenenti al cilindro formano interazioni specifiche con le sequenze di basi che si trovano nel solco dove l'interazione avviene. A causa della simmetria della proteina anche la sequenza del DNA, con cui l'interazione avviene, è generalmente simmetrica, è cioè una sequenza palindromica. A questa famiglia appartengono molte proteine regolatrici procariotiche (tra cui il repressore del fago lambda, il repressore del triptofano, la proteina CRO, la proteina CAP, etc.). Si tende a far appartenere a questa famiglia anche una serie di proteine eucariotiche, di notevole importanza, perché regolatrici dell'embriogenesi, le cosiddette *proteine con omeodomini*. La loro struttura non è così simmetrica come quella delle precedenti ma ricorda la *helix-turn-helix* con una zona di circa 60 aminoacidi entro la quale molti sono conservati tra le diverse specie.

b) Proteine con dita contenenti zinco (*zinc fingers*). Sono chiamate così perché presentano nella loro struttura più domini a forma di dito, ognuno dei quali contiene uno ione zinco coordinato a due residui di istidina e a due residui di cisteina. Questa coordinazione prefigura una sequenza di circa 30 aminoacidi ripiegata a formare un dito. È stato ipotizzato che ciascuno di questi diti possa interagire con la catena di DNA protrudendo nel solco largo della struttura dell'a. n. e formando legami idrogeno specifici con una sequenza di 4-5 coppie di basi (fig. 11). La variabilità della sequenza di aminoacidi nella punta del dito di ogni singola proteina appartenente a questa famiglia garantisce ad ognuna di esse la specificità di legame a predeterminate sequenze di DNA, pur all'interno di uno schema di interazione comune.

A questa famiglia appartengono: *a*) la proteina TFIIIA, il fattore di trascrizione collegato alla RNA polimerasi III, che trascrive i geni del 5S rRNA; *b*) il fattore di trascrizione Sp1, presente nelle cellule di mammifero, e che si lega a segmenti di DNA ricchi in GC, chiamati *GC box*; *c*) i re-







Digitized by Google

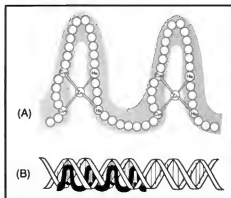



Fig. 11. *A*) Rappresentazione generica di una proteina che interagisce con il DNA appartenente alla famiglia *zinc fingers*. *B*) Rappresentazione schematica della interazione della proteina con il DNA. (*Da Alberts et al., 1989, ridisegnata*).

cettori degli ormoni steroidei che, una volta legato l'ormone, a seguito della variazione conformazionale che ne consegue, sono in grado di interagire con una sequenza regolatrice del DNA attivando la trascrizione di specifici geni.

c) Proteine con una sequenza di circa 30 aminoacidi altamente conservata con carica netta positiva, seguita da una regione contenente 4 leucine posizionate ad intervalli di 7 aminoacidi. La parte con la carica positiva è finalizzata

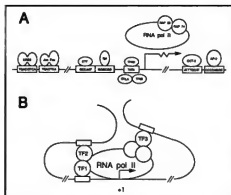



Fig. 12. Aspetti della regione di controllo della trascrizione per un gene di mammifero. *A*) Arrangiamento ipotetico delle sequenze di controllo, e delle relative proteine ad esse legate, di un gene trascritto dalla RNA polimerasi II. Da notare che le proteine Jun e Fos interagiscono tra loro mediante i residui leucinici (cfr. testo). *B*) Possibile modo di azione di fattori di trascrizione (TF) disposti a grande distanza dall'inizio della trascrizione. La freccia indica il punto d'inizio della trascrizione. (*P. J. Mitchell e R. Tjian, Science, 1989*, ***245***, *372, ridisegnata*).



all'interazione specifica con una sequenza di DNA mentre le leucine, che verrebbero a trovarsi tutte su una faccia di un tratto α-elicoidale avrebbero il compito, per la loro idrofobicità, di interagire con un'analoga regione di un'altra proteina simile, o immediatamente vicina o anche posta a migliaia di coppie di basi di distanza. Quest'ultima interazione comporterebbe il ripiegamento del DNA e sarebbe necessaria, insieme ad altri fattori, per innescare il processo di trascrizione.

A questa famiglia appartengono le proteine C/EBP, Jun, Fos e CREB, tutti fattori di trascrizione eucariotici.

La fig. 12 rappresenta schematicamente una possibile cooperazione tra diversi fattori di trascrizione (TF), alcuni dei quali molto distanti dal gene da trascrivere.

**Strutture non usuali del DNA**

*DNA curvo*

Il DNA *in vivo* presenta sempre delle curvature. La curvatura può avere una ovvia spiegazione quando si ha a che fare con DNA circolari o chiusi: essa è generata da fattori esterni. La spiegazione non è altrettanto ovvia quando si hanno DNA lineari; eppure questi ultimi possono essere curvi anche quando sono corti.

Il problema della curvatura può essere posto in questo modo: essa è dipendente solo da fattori esterni, da vincoli topologici oppure la curvatura della catena può manifestarsi per una peculiare tendenza da parte di certe sequenze ad assumere una struttura curva? Se la risposta a questa domanda è positiva allora anche la curvatura necessaria, come nei DNA circolari, può essere dovuta alla presenza di queste particolari sequenze.

La soluzione a questo problema è venuta da alcuni esperimenti effettuati per primi su frammenti estratti dal DNA del cinetoplasto di parassiti tropicali. Questi frammenti, fatti correre su gel elettroforetici in parallelo ad altri frammenti della stessa lunghezza, dimostrarono un'anomala, più bassa mobilità elettroforetica, che fu messa in relazione alla loro curvatura.

L'analisi della sequenza di questi frammenti dimostrò una curiosa periodicità della stessa, con una ripetizione dell'elemento $CA_{5-6}T$ ogni 10 coppie di basi o multiplo di 10.

Questa scoperta da una parte spinse i ricercatori a sintetizzare DNA con sequenze ripetitive simili per cercare di comprendere le basi strutturali della curvatura, dall'altra stimolò la ricerca di altre sequenze naturali curve per comprenderne l'eventuale ruolo biologico.

Ambedue gli approcci hanno dato (e stanno dando) i loro frutti anche se non tutto è chiarito.

Per quanto riguarda le basi strutturali della curvatura del DNA sono due le spiegazioni che vengono date.

La prima si basa sulla particolare struttura che possiede un DNA quando un filamento è costituito da sole adenine e l'altro filamento da sole timine (poli dA · poli dT). È già noto da parecchio tempo che un tale DNA non è in grado di formare i *nucleosomi* (v. NUCLEOSOMA, X, 1292), le strutture fondamentali della cromatina. Un DNA di quella sequenza è cioè incapace di avvolgersi intorno all'ottamero istonico, che è il nocciolo dei nucleosomi. A questo comportamento è stata data una base razionale dopo che A. Klug ha risolto, mediante diffrazione dei raggi X, la struttura di un cristallo formato da minieliche di d(5'CGCAAAAAAGCG3') con il proprio complementare d(5'CGCTTTTTTGCG3'). La struttura presenta due caratteristiche peculiari.

1. La doppia elica centrale, quella formata dai residui A e T, non è simile a nessuna delle classiche conformazioni del DNA (A, B, C o Z), pur avendo circa 10 coppie di basi per giro, come la struttura B. In essa le coppie AT sono caratterizzate da una forte non planarità, con A e T disposte tra loro come le pale di un'elica (v. sopra, fig. 7). Grazie a questa particolarità ogni adenina, oltre



Digitized by Google

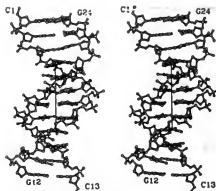



Fig. 13. Rappresentazione stereoscopica della struttura della mini-doppia-elica formata dai due oligonucleotidi complementari d(5'CGCAAAAAAGCG) e d(5'CGCTTTTTTGCG). Il blocco di coppie AT è mostrato *in neretto*. Da notare che l'asse della doppia elica centrale non è colineare con gli assi dei due blocchi fiancheggianti, a struttura B. (*Da Nelson H. C. M. et al., Nature, 1987, 330, 222, modificata*).

a formare legami idrogeno tipo Watson-Crick con la timina con cui è naturalmente appaiata, forma legami idrogeno anche con la timina appartenente alla coppia sottostante. In questo modo ogni adenina è legata con due timine ed ogni timina a due adenine. Questa struttura, chiamata H-DNA (da *heteronomous*), è molto rigida e sarebbe distrutta da un ripiegamento dell'asse della doppia elica, in accordo con il dato sperimentale che il poli dA · poli dT non forma nucleosomi.

2. Al di sopra e al di sotto di questa doppia elica fatta da coppie AT adiacenti, la normale doppia elica B assunta dagli altri residui non risulta coassiale con la prima ma ripiegata di un certo angolo. In altre parole alla giunzione tra le strutture H e B si forma una piegatura più o meno accentuata (fig. 13).

Se quindi ogni 10 coppie di basi abbiamo un tratto di 4-5 coppie AT contigue, seguite da altre sequenze, la ripiegatura generata ad ogni giunzione risulta in fase con le altre e quindi il DNA risulta curvo. Se questa ripetitività fosse localizzata su tratti più corti o più lunghi di 10 coppie di basi, si avrebbe una piccola piegatura locale per ogni tratto ripetitivo, ma essa verrebbe statisticamente cancellata dalle altre precedenti e seguenti.

L'altra spiegazione, invece che basarsi sull'alternarsi di tratti H e tratti B, considera il fatto che due coppie di basi adiacenti, per massimizzare l'energia di interazione, possano dar luogo ad un più o meno grande angolo di rollio (angolo $\rho$ delle fig. 7). Sommando gli angoli di rollio per ogni due coppie di basi adiacenti lungo una sequenza data si può avere una risultante non nulla ogni 10 coppie di basi e quindi una curvatura. È chiaro che, come nel caso precedente, si avrà un'apprezzabile curvatura di un intero tratto di DNA se le curvature per ogni giro dell'elica sono in fase tra loro.

Le implicazioni biologiche della curvatura del DNA possono essere molteplici. Tra le più significative è da citare la possibilità che a questa proprietà sia legata la messa in fase dei nucleosomi. Con questo termine si vuole fare riferimento al fatto che, quando il DNA eucariotico si avvolge intorno all'ottamero istonico per una lunghezza di 146 ogni circa 200 coppie di basi, questo avvolgimento non sia casuale lungo la sequenza del DNA, ma avvenga in determinati punti: in tal modo i nucleosomi sono sistemati in maniera precisa e preordinata, permettendo un più adeguato controllo della trascrizione o di altri processi. Altri meccanismi in cui la curvatura può presumibilmente svolgere un ruolo determinante sono l'impacchettamento del DNA virale nei capsidi e le reazioni di ciclizzazione del DNA stesso. In ultimo, ma certamente non meno importante, vi è la possibilità che la curvatura possa essere il primo livello di riconoscimento del DNA da parte di proteine regolatrici così come possa essere un elemento essenziale, per permettere la mutua interazione di proteine regolatrici poste a notevole distanza tra loro (v. sopra, fig. 12).

*Tripla elica*

I DNA eucariotici presentano un certo numero di siti ipersensibili alla *nucleasi S1*, un enzima che taglia in maniera specifica i filamenti singoli di DNA. Questi siti sono generalmente posti a monte di alcuni geni e, a seguito di sequenziamento, sono risultati costituiti da tratti di DNA, lunghi alcune decine di basi, che hanno la caratteristica di avere uno dei due filamenti costituito da purine e l'altro da pirimidine. Molte di queste sequenze sono simmetriche, nel senso che metà della sequenza in un filamento si ripete invertita nell'altra metà.

Il comportamento all'attacco enzimatico della nucleasi S1 e la posizione di queste sequenze rispetto ai geni fanno pensare che la struttura di questi tratti di DNA sia diversa rispetto al resto della catena e che questa struttura possa avere un ruolo nell'attivazione o disattivazione dei geni a cui queste sequenze sono contigue.

Lo studio strutturale di questo tipo di sequenze, mediante tecniche chimico-fisiche o mediante reattività chimica con agenti specifici, ha portato alla conclusione che molte di queste sequenze possono assumere *in vivo*, sotto stress topologico, una conformazione a tripla elica. La scoperta di questa conformazione *in vitro* risale a molti anni fa quando alcuni ricercatori trovarono che mescolando poli dA e poli dT in rapporto 1:2 era possibile ottenere delle strutture a tre filamenti, due dei quali (poli dA · poli dT) formano una normale doppia elica di tipo A mentre il terzo filamento poli dT si lega a questa struttura sistemandosi nel solco largo (fig. 14). L'orientamento del terzo filamento è antiparallelo rispetto al suo omologo mentre è parallelo al poli dA.

L'interazione del terzo filamento con gli altri due è costituita da *legami idrogeno di tipo Hoogsteen* fatti nel solco largo dalle pirimidine del terzo filamento con le purine della doppia elica di tipo A. Quest'ultima conformazione è obbligatoria perché la struttura B ha un solco maggiore non sufficientemente largo da alloggiare un terzo filamento.

La formazione di legami idrogeno di tipo Hoogsteen non

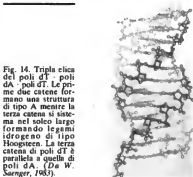



Fig. 14. Tripla elica del poli dT · poli dA · poli dT. Le prime due catene formano una struttura di tipo A mentre la terza catena si sistema nel solco largo formando legami idrogeno di tipo Hoogsteen. La terza catena di poli dT è parallela a quella di poli dA. (*Da W. Saenger, 1983*).





Digitized by Google

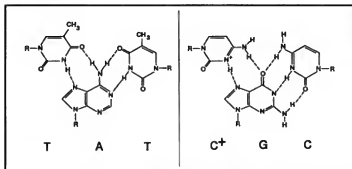



Fig. 15. Rappresentazione dei legami idrogeno tipo Watson e Crick e tipo Hoogsteen nelle triplette TAT e C⁺GC.

è esclusiva delle coppie AT: anche le coppie CG possono formarli purché la citidina del terzo filamento sia protonata. La fig. 15 illustra le triplette TAT e C⁺GC che danno luogo alla struttura a tripla elica.

Come è possibile formare triple eliche in un DNA che contiene due soli filamenti, come il DNA naturale? La fig. 16 illustra il meccanismo prodotto dallo stress: un tratto di doppia elica si apre e il filamento polipirimidinico si avvolge intorno al tratto a doppia elica intatto. Ovviamente il filamento contenente le purine del tratto aperto rimane non appaiato.

Questo meccanismo spiega anche perché, per ottenere questa struttura, sia necessario che la sequenza sia simmetrica ed invertita: il filamento polipirimidinico ripiegandosi deve far coincidere una T o una C con le corrispondenti T e C del tratto non aperto.

La struttura a tripla elica di questi segmenti ha avuto conferme sperimentali mediante l'uso di agenti chimici. La cloroacetaldeide, per es., che attacca N1 e N6 dell'adenina,

Fig. 16. Modello di formazione di una tripla elica intramolecolare in presenza di sequenze simmetriche invertite. Il filamento scuro è polipirimidinico; il filamento chiaro è polipurinico. (*J. C. Hanvey et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1988, 85, 6292-6296*).

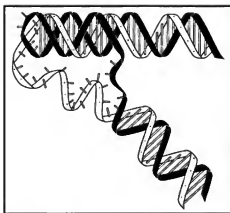
reagisce con questi atomi quando l'adenina è presente nel filamento singolo polipurinico ma non con quelli dell'adenina impegnata in legami idrogeno nella doppia o tripla elica. Il dimetilsolfato reagisce con N7 della guanina nella doppia elica ma non con N7 della guanina impegnata in legami Hoogsteen nella tripla elica.

La presenza del filamento polipurinico non appaiato spiegherebbe l'alta sensibilità del DNA alla nuelcasi S1, che è un enzima che taglia i filamenti singoli ma non le doppie eliche.

Non è facile prevedere la funzione *in vivo* di questa struttura: certamente la formazione della tripla elica riduce lo eventuale stress topologico, che a sua volta, come si è visto in precedenza, è causa di cambiamenti conformazionali locali. In più non è esclusa la presenza di particolari proteine regolatrici che si legano esclusivamente alla tripla elica. Mancano al momento conferme a queste o ad altre ipotesi ma la natura non conserva facilmente sequenze particolari se esse non hanno una precisa funzione.

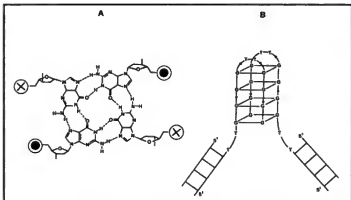
La formazione di triple eliche nei tratti polipurinici · polipirimidinici potrebbe essere utilizzata, con finalità biotecnologiche, per il taglio specifico del DNA all'altezza di queste sequenze. L'uso di sonde polipirimidiniche con sequenza complementare a quella da tagliare e contenenti ad un terminale un agente chimico (come lo EDTA-Fe) in grado di idrolizzare il legame fosfodiesterico delle catene di DNA, porterebbe alla formazione della tripla elica in corrispondenza della sequenza prestabilita e la sonda potrebbe effettuare il taglio. Si avrebbe così a disposizione uno strumento molto utile (e molto più selettivo delle *endonucleasi di restrizione*, comunemente usate in questi casi) per il mappaggio di alcuni geni nei cromosomi.

### *DNA telomerico. Quadrupla elica*

I terminali telomerici dei cromosomi eucariotici (v. CROMOSOMA, IV, 1578) sono composti di semplici sequenze ripetute in cui uno dei due filamenti di DNA contiene corti tratti di guanine che si alternano a corti tratti di A e/o T. Il filamento ricco in G è orientato in direzione 5'-3' verso il terminale del cromosoma ed è esteso in modo da generare un prolungamento contenente generalmente alcune unità $N_nG_m$ (N = base diversa da G, $n \geq 2$, $m \geq 3$). Questa struttura è nota per essere riconosciuta da un enzima specifico, la *telomerasi*, che allunga i terminali dei cromosomi dopo la replicazione degli stessi. Senza questo processo, infatti, i cromosomi si accorcerebbero di un po' ad ogni ciclo di replicazione, proprio per il meccanismo molecolare con cui essa avviene.





Digitized by Google

Fig. 17. *A*) Formazione di una quadrupla elica mediante legami idrogeno di tipo Hoogsteen tra quattro guanine. La polarità dei filamenti è rappresentata da 5' a 3' che va verso il basso (⊗) e verso l'alto (◉). *B*) Possibile struttura formata da due terminali telomerici. (*W. I. Sundquist e A. Klug, Nature, 1989, 342, 829*).

È stato però dimostrato che questi terminali a singolo filamento sono in grado di formare delle strutture speciali, le quali a loro volta potrebbero essere responsabili dell'aggregazione in registro dei cromatidi durante il processo di meiosi (v., IX, 723).

La base della formazione di queste strutture sta nella notevole capacità che hanno le guanine di aggregarsi tra loro mediante legami idrogeno tipo Hoogsteen. La fig. 17 mostra il tipo di struttura che può formarsi. Il terminale TTGGGGTTGGGG (che è un esempio dei possibili terminali naturali) si ripiega prima su se stesso per formare una forcina, la quale a sua volta si aggrega ad un'altra forcina analoga, terminale di un altro cromosoma. Si ottiene così una quadrupla elica con i filamenti di G antiparalleli in modo alternato.

Quale può essere il significato biologico di queste strutture?

È noto che durante la meiosi i cromosomi si allineano in registro e che durante questo stadio avvengono processi di ricombinazione cioè di scambio di lunghi tratti di DNA omologo tra cromatidi fratelli. L'aggregazione dei telomeri dei cromatidi fratelli potrebbe essere il meccanismo con cui si realizza la messa in registro.

V. anche: CROMOSOMA (IV, 1578); CROMOSOMA*; GENE*; GENETICA (VI, 2315); GENETICA*; INGEGNERIA GENETICA*; NUCLEOSOMA (X, 1292).

**Bibliografia**

Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K., Watson J. D., *Molecular Biology of the Cell*, 1989, 2 ed., Garland Publishing, New York.

Saenger W., *Principles of Nucleic Acid Structure*, 1983, Springer-Verlag, New York.

Watson J. D., Hopkins N. H., Roberts J. W., Steitz J. A., Weiner A. M., *Biologia Molecolare del Gene*, 1989, 4 ed., Zanichelli, Bologna.

FRANCO QUADRIFOGLIO

## NUCLEOSIDICI ANALOGHI

La denominazione di *analoghi nucleosidici* viene impiegata per designare, in senso generico, una serie di sostanze farmacologiche, di diverso impiego clinico, caratterizzate da una struttura chimica più o meno strettamente simile a quella dei nucleosidi presenti nel DNA e/o nell'RNA cellulare e virale (v. NUCLEICI ACIDI, X, 1250).

I cinque nucleosidi fondamentali sono, come noto, l'*adenosina*, la *guanosina*, la *timidina*, la *citidina* e l'*uridina*. Ciascuno di essi è formato da uno zucchero pentoso (desossiribosio o ribosio) e da una base azotata purinica (adenina o guanina) o pirimidinica (timina, citosina o uracile). È appunto dalla modificazione chimica di tali molecole che traggono origine i vari preparati farmacologici classificabili fra gli a. n. La modificazione può essere di vario tipo: ad es., essa può consistere in una desossigenazione (come nel caso dei didesossinucleosidi impiegati nella chemioterapia dell'AIDS), in una desossigenazione combinata con un'alogenazione (come nel caso della iododesossiuridina), nella sostituzione del desossiribosio con l'arabinosio (come nel caso della vidarabina), nell'introduzione di radicali di diverso genere, etc.

Il meccanismo d'azione degli a. n., pur variando sensibilmente da composto a composto, risulta in ogni caso riconducibile ad un'interferenza con i processi di sintesi dei nucleotidi e, più in generale, degli acidi nucleici. Ciò può verificarsi con due principali modalità: *a*) competizione degli a. n. con i composti naturali, che rappresentano substrati insostituibili degli enzimi implicati nella sintesi (come, ad es., la DNA-polimerasi), con conseguente inibizione degli enzimi stessi; *b*) effetto *chain terminator* di un a. n. riconosciuto dalla polimerasi e da questa inserito nella nascente molecola dell'ac. nucleico.

Poiché gli a. n. sono capaci — in ultima analisi — di inibire la moltiplicazione cellulare e la replicazione dei virus, le loro applicazioni cliniche sono essenzialmente costituite dalla *chemioterapia antineoplastica*, per la quale essi furono inizialmente sviluppati, e dalla *chemioterapia antivirale*, che rappresenta un campo d'impiego relativamente recente e tuttora in evoluzione.

Fra i chemioterapici antineoplastici, appartengono alla categoria degli a. n. (o a quella, strettamente affine, degli analoghi delle basi puriniche e pirimidiniche) composti come il *5-fluorouracile*, la *flossuridina* (5-fluoro-2'-desossiuridina), la *citarabina* (1-β-D-arabinofuranosilcitosina), la *6-mercaptopurina*, l'*azatioprina* (derivato della 6-mercaptopurina), la *6-tioguanina*. Per la trattazione di queste sostanze si rimanda alle voci: ANTIBLASTICI FARMACI (II, 206); ARABINOSILCITOSINA (II, 614); AZATIOPRINA (II, 1767); 5-FLUOROURACILE E 5-FLUORODESOSSIURIDINA (VI, 1782); MERCAPTOPURINE (IX, 930).

Gli a. n. ad azione antivirale comprendono invece: la *iododesossiuridina* (5-iodo-2'-desossiuridina), la *trifluridina* (5-trifluorometil-2'-desossiuridina), la *vidarabina* (9-β-D-



Digitized by Google

arabinofuranosiladenina), la *ribavirina* (analogo della guanosina), l'*aciclovir* e il *ganciclovir* (analoghi sintetici della guanina) e, infine, la *zidovudina* (3'-azido-2',3'-didesossitimidina, o AZT) e gli altri didesossinucleosidi antiretrovirali, come la *ddI* (2',3'-didesossinosina), la *ddA* (2',3'-didesossiadenosina) e la *ddC* (2',3'-didesossicitidina). Per la trattazione di tali farmaci si rimanda alle voci: ACICLOVIR* (35); GANCICLOVIR* (3287); IODODESOSSIURIDINA (VII, 2459); RIBAVIRINA*; VIDARABINA (XV, 2037); ZIDOVUDINA (XV, 2388); ZIDOVUDINA E ANALOGHI NUCLEOSIDICI ANTI-HIV*.

**Bibliografia**

Calabresi P., Chabner B. A., *Chemotherapy of Neoplastic Diseases*, in Goodman Gilman A., Rall T. W., Nies A. S., Taylor P., *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 8 ed., 1990, Pergamon Press, New York, p. 1202.

Gordon Douglas R., *Antiviral Agents*, in Goodman Gilman A., Rall T. W., Nies A. S., Taylor P., *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 8 ed., 1990, Pergamon Press, New York, p. 1182.

Yarchoan R., Mitsuya H. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1989, **321**, 726.

REO.

## NUTRIZIONE [v. vol. X, col. 1310]

## RISCHI LEGATI A PARTICOLARI FORME DI NUTRIZIONE E PRODOTTI DIETETICI

SOMMARIO



### Introduzione

L'alimentazione della popolazione è cambiata un po' dovunque nei paesi industrializzati, nel complesso in meglio. L'osservazione di malati con un quadro carenziale grave è un fatto praticamente eccezionale. Ciò non significa che la malnutrizione (v. MALNUTRIZIONE, IX, 214) sia ormai un problema esclusivo del terzo mondo, in quanto se in questo ultimo dominano ancora i quadri carenziali, nei paesi sviluppati la malnutrizione si traduce in un apporto non bilanciato dei diversi nutrienti con conseguenze conosciute solo in parte; ad es. si conosce ancora poco dei rapporti, molto complessi, tra alimentazione e nutrienti, da un lato, e il rischio delle diverse forme di cancro dall'altro. Inoltre, negli ultimi decenni e in particolare negli ultimi anni sono state introdotte o riproposte alcune mode alimentari, come i *fast-food* o la dieta vegetariana, che hanno posto problemi aggiuntivi.

### Rischi dell'alimentazione vegetariana

La dieta vegetariana si è affermata nei paesi occidentali a partire dagli anni '60 sebbene abbia origini antichissime. È stato detto che il suo atto di nascita risale verosimilmente al momento in cui il primo uomo si ammalò per aver mangiato carne avariata. Le persone possono adottare un'alimentazione vegetariana per ragioni diverse, per es. religiose, socioeconomiche, come accade in molti paesi del terzo mondo, perché ritengono che sia utile all'organismo, o anche per ragioni, genericamente, ideologiche. È stato sottolineato, tra l'altro, che gli adolescenti potrebbero preferire una dieta vegetariana, alternativa rispetto a quelle usuali, come elemento costitutivo della costruzione di una loro individualità (Gong *et al.*, 1988). Ciò pone problemi particolari perché in una fase di crescita e di fabbisogni metabolici e nutrizionali aumentati, bambini e adolescenti vegetariani possono correre rischi maggiori, anche se ciò non sembra accadere invariabilmente (O'Connel *et al.*, 1989).

D'altro canto, alcune indagini degli ultimi anni sembrano sottolineare l'utilità di un'alimentazione vegetariana nelle persone anziane, in cui sono più bassi i fabbisogni nutritivi e in cui, al contrario, è maggiore il rischio di cancro. Tutti questi dati, anche se contraddittori, hanno suscitato comprensibilmente, grande interesse.

Peraltro, esistono tipi diversi di dieta vegetariana, caratterizzati ciascuno dall'inclusione di certi alimenti e dall'esclusione di altri. Una distinzione che viene fatta comunemente è tra *vegetariani stretti*, divisi in «vegetalisti» e «fruttisti», *latto-vegetariani* e *ovo-latto-vegetariani*.

*Ovo-latto-vegetariani*. – L'alimentazione di queste persone comprende prodotti vegetali, uova, latte e prodotti caseari. Se seguita in maniera scrupolosa, garantisce un apporto equilibrato di nutrienti, senza rischi particolari. È il tipo di dieta vegetariana più diffusa. Rispetto a quella latto-vegetariana, assicura un apporto addizionale di proteine di alto valore biologico, di Vit. A e di ferro; peraltro, proprio la carenza di ferro rappresenta l'effetto collaterale che si registra più di frequente. I rischi carenziali sono nel complesso minori nell'anziano e indagini recenti hanno indicato l'adeguatezza di una dieta ovo-latto-vegetariana nel fornire i nutrienti necessari (Brants *et al.*, 1990) purché la dieta sia stata studiata con attenzione, in particolare per quanto riguarda l'apporto di Vit. $B_{12}$, di Fe e Zn (Nieman *et al.*, 1989); le osservazioni di questi ultimi AA. indicano anche che la dieta vegetariana migliora i livelli ematici di glicoso e lipidi, mentre non aumenta l'efficenza fisica degli anziani.

Un'alimentazione bilanciata a base di vegetali comporta diversi cambiamenti biologici, associati in qualche caso a un rischio più basso di malattie. È stato segnalato, per es., che esiste una correlazione positiva tra diete ad alto contenuto in fibre e bassi livelli di colesterolemia e il Leiden Intervention Trial ha indicato che una dieta a base di vegetali, povera di colesterolo e ricca di grassi polinsaturi, può arrestare la progressione di lesioni coronariche in pazienti con angina stabile (Arntzenius *et al.*, 1985); gli ovo-latto-vegetariani, inoltre, tendono ad avere valori pressori più bassi (Kestin *et al.*, 1989).

Queste osservazioni, peraltro, non hanno sempre un'interpretazione univoca in particolare perché le persone che seguono questo tipo di alimentazione hanno di solito uno stile di vita particolare, non fumano, non bevono e svolgono un'attività fisica regolare. Il Leiden Intervention Trial, d'altra parte, uno studio non controllato e che ha coinvolto un numero limitato di pazienti, è stato considerato semplicemente come un'indicazione dell'opportunità di aumentare il quantitativo di fibre nell'alimentazione (Blankenhorn, 1985).

La dieta vegetariana, inoltre, attraverso un apporto lipidico minore, può modificare la concentrazione degli estrogeni considerati un fattore di rischio per il cancro della mammella. Le donne vegetariane hanno infatti un'escrezione fecale degli ormoni maggiore delle donne onnivore (Goldin *et al.*, 1982) e una concentrazione minore di estradiolo nel sangue (Bennett *et al.*, 1990). Tutto ciò, di cui non sono del tutto chiare le ragioni, potrebbe spiegare, almeno in parte, la minore incidenza di cancro della mammella tra le donne vegetariane (Avventisti del settimo giorno) (20-40% in meno) o tra le donne africane e asiatiche, tra le quali questa neoplasia è ancora meno diffusa (Phillips *et al.*, 1980; Howell, 1976).



Digitized by Google

Una possibile spiegazione della ridotta incidenza del cancro tra i vegetariani è legata a cambiamenti che la dieta provoca nel sistema immunitario. È stato riferito, in particolare, che l'attività citotossica dei linfociti, espressa in unità litiche, è significativamente maggiore nei vegetariani che negli onnivori (Malter *et al.*, 1989). Non è ancora chiaro, dunque, se la minore incidenza di neoplasie dei vegetariani sia da attribuire a una minore esposizione a cancerogeni, ambientali o meno, o non piuttosto a una maggiore attività del sistema immunitario.

*Vegetalisti (o vegan).* – L'alimentazione di queste persone è costituita solo da prodotti di origine vegetale, una scelta che può garantire un apporto soddisfacente dei diversi nutrienti essenziali purché l'alimentazione sia estremamente variata. L'unica eccezione è costituita dalla Vit. $B_{12}$, presente pressoché esclusivamente in cibi di origine animale e che i *vegan* ricavano da estratti di lievito e da cibi fermentati di origine orientale. Un altro inconveniente abbastanza frequente di questa dieta sono le basse concentrazioni di Ca, Fe e Zn. In particolare per quanto riguarda l'apporto proteico, gli alimenti dei *vegan* debbono essere tali da soddisfare, per quantità e qualità, il fabbisogno di aminoacidi essenziali.

Quando non vengono soddisfatte le condizioni che assicurano un apporto sufficiente dei vari nutrienti, i vegetalisti vanno incontro a carenze di vario tipo. Relativamente frequenti sono quelle di Ca, Fe, riboflavina e Vit. $B_{12}$. In particolare, la carenza di quest'ultima vitamina può portare al cosiddetto *vegan back*, una degenerazione irreversibile dei cordoni posteriori del midollo spinale, e ad anemia perniciosa. È stato anche riportato che un basso apporto di Vit. $B_{12}$ in donne vegetariane nutrici determina una ridotta concentrazione della vitamina nel latte e nel neonato (Specker *et al.*, 1990).

Una recente indagine svedese, infine, ha smentito che una dieta vegetariana stretta possa essere comunque utile in caso di artrite reumatoide, al contrario di quanto asserito da alcuni studi precedenti (Skoldstam L., 1989).

*«Fruttisti».* – La dieta, ancora più ristretta che nel caso precedente, comprende solo frutta, fresca e secca, succhi, noci, in qualche caso legumi. Molte persone assumono un supplemento di vitamine per coprire il loro fabbisogno. I principali problemi nutrizionali legati a questo tipo di alimentazione dipendono da un apporto inadeguato di Vit. $B_{12}$, Ca, Fe, calorie e proteine (sia dal punto quantitativo che qualitativo).

I soggetti, dunque, possono presentare un quadro carenziale misto, legato al deficit dei vari nutrienti. Un problema aggiuntivo legato, in genere, a un'alimentazione vegetariana, ma più grave in questo caso, è costituito dall'eccesso di fibre vegetali che accelerando il transito intestinale del cibo diminuisce il tempo disponibile per l'assorbimento delle sostanze.

*Latto-vegetariani.* – L'alimentazione a base di vegetali e latte, più ricca delle ultime due, comporta rischi minori per quanto riguarda la carenza di Ca, riboflavina, Vit. $B_{12}$ e Vit. D. Con un'accurata scelta degli alimenti le persone, in genere, non hanno disturbi carenziali, che, al contrario, possono comparire, per un apporto proteico insufficiente, per quantità e qualità.

Un altro argomento molto studiato è il possibile ruolo protettivo di una dieta vegetariana, ricca di fibre, rispetto al cancro del colon. È stato visto che un'alimentazione latto-vegetariana comporta diminuzione degli acidi grassi e dell'ac. deossicolico nel materiale contenuto nel colon e che dunque, nell'insieme, può tradursi in una riduzione netta dei fattori di rischio della neoplasia in questione (Allinger *et al.*, 1989).

**Problemi nutrizionali legati ai *fast-food***

Negli ultimi anni, anche in Italia, è aumentato il numero dei cosiddetti *fast-food* e, parallelamente, la quota di popolazione che utilizza questi locali per la ristorazione. Il fenomeno ha dimensioni assai maggiori in altri paesi e, in particolare, negli U.S.A., dove si calcola che approssimativamente un quinto della popolazione (circa 55 milioni di persone), in una giornata-tipo, mangi in uno di questi locali. Ciò ha richiamato l'attenzione delle autorità sanitarie e, di recente, il Massachusetts Medical Society Committee on Nutrition ha preparato un documento che, nelle sue linee generali, può essere utile anche per la situazione italiana. Lo scopo è quello di far presente ai medici i rischi potenziali connessi con questo tipo di alimentazione. Riportiamo qui di seguito le considerazioni e le raccomandazioni generali del documento.

*Grassi.* – Tra il 40 e il 55% delle calorie introdotte con cibi dei *fast-food* provengono dai grassi, una quantità eccessiva rispetto al 30% raccomandato, per es., dall'American Heart Association. Inoltre, anche se molti *fast-food* sostengono di usare solo oli vegetali, privi di colesterolo, questi hanno un alto contenuto in grassi altamente saturi, un inconveniente che aumenta ulteriormente quando sono portati più volte alle alte temperature necessarie per la frittura.

*Sodio.* – In genere, un pasto consumato presso un *fast-food* contiene una quantità di sodio notevole: un semplice *sandwich*, per es., fornisce dai 700 ai 900 mg di sodio contro una quantità giornaliera raccomandata che varia tra i 1100 e i 1300 mg.

*Fibre.* – I pasti consumati nei *fast-food* hanno in genere un basso contenuto di fibre, un difetto cui potrebbe porre riparo l'abitudine sempre più diffusa di pasti a base di insalate fresche, verdura e frutta.

*Calcio.* – Un pasto tipico consumato presso un *fast-food* è povero di calcio e, com'è noto, la scarsa ingestione di calcio è stata messa in relazione con la crescente incidenza di osteoporosi.

*Proteine.* – I pasti nei *fast-food* comportano l'ingestione di quantità significative di proteine, un fatto anche questo di rilievo alla luce dei recenti studi epidemiologici che hanno indicato un'associazione tra l'ingestione di quantità eccessive di proteine e osteoporosi.

I *fast-food*, inoltre, sono stati messi sotto accusa ripetutamente, perché, mentre i loro pasti forniscono quantità eccessive di calorie, sono carenti per quanto concerne l'apporto di ac. folico, biotina, ac. pantotenico, Vit. A, ferro e rame, e sono del tutto insufficienti nell'apporto di magnesio, Vit. $B_6$, E e C.

In conclusione, visto il successo e la diffusione crescente di questo tipo di ristorazione presso la popolazione, in particolare quella giovanile, le autorità sanitarie statunitensi raccomandano di cercare di migliorare la qualità e la varietà dei cibi offerti e, naturalmente, di educare i frequentatori di *fast-food* ad abitudini alimentari più razionali. Sarebbe opportuno, per es., che il frequentatore venisse informato correttamente sul contenuto di calorie, minerali e grassi degli alimenti e che fossero introdotti anche dei menù speciali per quanti volessero limitarne l'apporto.

**Sindrome del ristorante cinese**

È un quadro clinico descritto per la prima volta nel 1968 (Kwok, 1968) e quasi di certo causato dal glutammato monosodico molto usato nella cucina cinese. I sintomi compaiono a distanza di 15-20 min dall'ingestione del cibo e, in genere, scompaiono entro 2 h. I disturbi più comuni sono cefalea, nausea e una sensazione di bruciore che dal torace





Digitized by Google

si diffonde a collo, spalle, avambracci e, più di rado, alle cosce, disturbi cui spesso seguono lacrimazione e sudorazione; meno frequenti sono le sensazioni di tensione sul viso e dietro gli occhi o di pressione precordiale, che s'irradia alle ascelle e al collo. Rare, infine, palpitazioni, sincope e tachicardia ventricolare. Si tratta di disturbi autolimitanti, sebbene in alcune persone si presentino con maggiore frequenza e debbano essere tenuti in considerazione nel caso di soggetti a rischio, per es. di cardiopatici. Sono stati segnalati anche due casi di attacco acuto di asma, comparso 11-14 h dopo l'ingestione del cibo (Allen e Baker, 1981).

Il glutammato monosodico, sale monosodico dell'ac. glutammico, è un additivo alimentare usato in larghe quantità (2-5 g) nella cucina cinese, giapponese e del sud-est asiatico. Viene impiegato anche altrove e nei paesi occidentali è presente in varie spezie, nei dadi da brodo e in alcune preparazioni farmaceutiche come gli idrolizzati proteici e i preparati di fegato per via orale. Glutammato libero si trova, invece, in funghi, pomodori e parmigiano. Con la cucina occidentale s'ingeriscono in media 0,3 g di glutammato monosodico al giorno, una quantità molto inferiore ai 3 g che si calcola vengano assunti con la cucina del sud-est asiatico.

Il glutammato monosodico ha anche un'azione eccitatoria e potenzialmente tossica sul sistema nervoso, in particolare sull'ipotalamo, azione che compare a distanza di ore e che potrebbe spiegare la broncocostrizione tardiva segnalata nei casi di asma (v. anche GLUTAMMICO ACIDO, VII, 487).

Questi rilievi hanno anche un interesse d'ordine più generale. È stato ipotizzato, per es., che la bassa incidenza di malattie cardiocircolatorie a patogenesi aterotrombotica registrata in Cina, specie nelle sue regioni meridionali, possa essere spiegata con l'azione antiaggregante piastrinica di sostanze contenute nei *mo-er*, funghi che crescono sugli alberi (*Auricularia polytricha*) (Hammerschmidt, 1980) e, in particolare con l'azione dell'adenosina (Makheja *et al.*, 1981).

La sindrome in questione rappresenta uno dei quadri clinici più comuni connessi all'ingestione di cibi o bevande della cucina orientale. Il *Ma-po dou-fu*, pietanza a base di *mo-er*, è stata segnalata come causa di un particolare tipo di porpora, la *porpora di Szechwan*, dal nome dell'omonima regione della Cina (Allen *et al.*, 1981).

Anche l'uso del *ginseng*, di cui è stata propagandata la utilità per aumentare la *libido*, la fertilità e la longevità, può provocare degli effetti collaterali, in particolare ginecomastia; ciò sembra dovuto a composti estrogeno-simili presenti al suo interno. Tra i consumatori cronici è stata segnalata una *sindrome da abuso di ginseng*, con irritabilità, eccitazione, tensione e ipertensione (Siegel *et al.*, 1979).

**Rischi connessi alla cucina giapponese**

I pericoli della cucina giapponese sono legati, in particolare, all'abitudine di mangiare pesce crudo (Schantz, 1989; Wittner *et al.*, 1989). Sono stati segnalati diversi casi d'infezioni parassitarie provocate da alcuni nematodi, il più delle volte della famiglia degli *Anisakidae*, le cui larve si possono trovare nel pesce crudo e vengono normalmente uccise dalla cottura a 65 °C per 10 min. Sono incriminati, in particolare, i piatti indicati come *sushi* e *sashimi*. Molti AA. ritengono che si tratti di malattie più diffuse di quanto non appaia, dato che spesso esse non vengono diagnosticate o segnalate. Sono sotto accusa soprattutto le pietanze preparate in casa e non quelle offerte dai ristoranti e ciò perché la perizia degli *chef* garantirebbe tempi e modi di una cucina più sicura.

Le specie di nematodi più incriminate sono *Pseudoterranova decipines*, *Anisakis simplex* e *Anisakis marina* (v. ANISAKIASI, I, 2392) mentre i pesci che più spesso li ospitano e che pertanto possono veicolare l'infezione sono il maccarello, l'aringa, il salmone e il baccalà. Una volta ingerite, le larve possono morire, essere eliminate o sopravvivere temporaneamente dentro l'intestino. Il più delle volte sono eliminate qualche ora dopo l'ingestione attraverso rigurgiti e tosse. Quelle che restano, invece, passano dal lume intestinale all'interno della mucosa dove provocano una sintomatologia tipo addome acuto che può essere scambiata per appendicite acuta o per la perforazione di un'ulcera. Se si vuole mangiare pesce crudo, per assicurare l'eliminazione dei parassiti una possibilità è il surgelamento del pesce a −20 °C per almeno cinque giorni, precauzione resa obbligatoria dalle autorità sanitarie olandesi.

**Formulazioni dietetiche per dimagrire**

Negli ultimi anni si è andato affermando nella popolazione il ricorso a un nuovo tipo di diete liquide per controllare l'obesità e le eccedenze ponderali. In passato, le diete liquide fortemente ipocaloriche e iperproteiche hanno avuto una diffusione limitata per la loro bassa *compliance* e per i loro effetti collaterali; sono stati registrati anche dei decessi presumibilmente dovuti ad aritmie cardiache. Il fatto che in queste diete, così come nella dieta *Scarsdale*, le calorie derivino in buona parte da proteine ha una ragione precisa, in quanto l'eccesso relativo di proteine, per la loro elevata *azione dinamico-specifica* (A.D.S.) (v. DIETETICA, V, 95), promuove il consumo di calorie e la loro dispersione sotto forma di calore. In condizioni normali, un'alimentazione ben bilanciata aumenta dal 6 al 10% la produzione basale di calore. Tra i nutrienti, le proteine sono quelle con la azione dinamico-specifica più alta, seguite dai carboidrati e dai grassi.

Le formulazioni dietetiche attuali, almeno secondo i fabbricanti, non presenterebbero i rischi delle diete liquide classiche, in particolare per un bilancio più accurato dei diversi nutrienti. Anche se l'esperienza accumulata sinora sembra confermare queste dichiarazioni, sono stati segnalati ripetutamente, anche in questo caso, degli inconvenienti e diversi AA. sono scettici sul fatto che l'uso continuato di questi prodotti possa determinare un calo ponderale stabile.

Le nuove formulazioni (cfr. *Medical Letter*, 1989) sono costituite da miscele anidre di nutrienti essenziali che, prima dell'uso, debbono essere allungate con acqua. I prodotti contengono proteine ad alto valore biologico (del latte o delle uova, non proteine vegetali), lipidi e carboidrati. Questi ultimi diminuiscono la chetosi, l'iperuricemia, la perdita di elettroliti e quella di proteine tessutali. I lipidi, oltre a migliorare la palatabilità, forniscono gli acidi grassi essenziali.

In genere, con l'assunzione di questi prodotti (2-6 dosi nel corso della giornata) si perdono 2-5 kg di peso durante la prima settimana di dieta e, successivamente, 1-2 kg per settimana; diete di 3 mesi consentono il più delle volte una riduzione di 10-15 kg del peso corporeo.

Come accennato, uno dei problemi più significativi posto da queste formulazioni è che il calo ponderale non viene mantenuto nel tempo. Per es., un'indagine condotta negli U.S.A. qualche anno fa su 4502 soggetti patologicamente obesi ha fatto registrare con un controllo a 18 mesi di distanza un insuccesso nell'80-90% dei casi (Kirschner *et al.*, 1988).

I possibili effetti negativi di queste formulazioni sono legati al rapido calo ponderale ottenuto; sono da segnalare



Digitized by Google

intolleranza al freddo, pelle secca, perdita di capelli, costipazione, ipotensione posturale, ipopotassiemia, iperuricemia e colecistite acuta. Possono osservarsi anche alterazioni dell'umore, come depressione ed eccitazione maniacale ed è stato segnalato un caso di psicosi acuta.

In conclusione, anche se efficaci nel breve periodo le formulazioni dietetiche liquide non assicurano un calo ponderale stabile, che può essere ottenuto invece con una combinazione di misure dietetiche meno drastiche, cambiamenti nelle proprie abitudini alimentari e l'attività fisica.

V. anche: DIETETICA (V, 88); DIETOTERAPIA (V, 122).

**Bibliografia**


Allen D. H., Baker G. J., *N. Engl. J. Med.*, 1981, **305**, 1154.
Allinger U. G., Johansson G. K., Gustaffson J. A., *Am. J. Clin. Nutr.*, 1989, **50** (5), 992.
Anonimo, *Med. Lett.*, 1989 (ed. it.), n. 10, 15 maggio, p. 41.
Arntzenius A. C. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1985, **312**, 805.
Bennett F. C., Ingram D. M., *Am. J. Clin. Nutr.*, 1990, **52**, 808.
Blankenhorn D. H., *N. Engl. J. Med.*, 1985, **312**, 851.
Brants H. A., Lowik M. R., Westenbrink S., *J. Am. Coll. Nutr.*, 1990, **9** (4), 292.
Goldin B. R. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1982, **307**, 1542.
Gong E. J., Heald F. P., in Shills M. E., Young V. R. eds., *Modern Nutrition in Health and Disease*, 1988, Lea & Febiger, Philadelphia.
Hammerschmidt D. E., *N. Engl. J. Med.*, 1980, **302**, 1191.
Howell M. A., *J. Chronic Dis.*, 1976, **29**, 243.
Kestin M., Rouse I. L., Correll R. A., *Am. J. Clin. Nutr.*, 1989, **50** (2), 280.
Kirschner *et al.*, *Int. J. Obes.*, 1988, **12**, 69.
Kwok R. H. M., *N. Engl. J. Med.*, 1968, **278**, 796.
Makheja A. N., Bailey J. M., *N. Engl. J. Med.*, 1981, **304**, 175.
Malter M., Schriever G., Eilber U., *Nutr. Cancer*, 1989, **12** (3), 271.
Massachusetts Medical Society Committee on Nutrition, *N. Engl. J. Med.*, 1989, **321**, 752.
*Medical Letter*, 1989, **XVIII**, 42.
Nieman D. C., Sherman K. M., Arabatzis K. *et al.*, *Int. J. Sports Med.*, 1989, **10** (4), 243.
O'Connel J. M., Dibley M. J., Sierra J., *Pediatrics*, 1989, **84** (3), 475.
Phillips R. L., *J.N.C.I.*, 1980, **75**, 1097.
Register U. D., Sonneburg L. H., *J. Am. Diet. Assoc.*, 1973, **62**, 253.
Schantz P. M., *N. Engl. J. Med.*, 1989, **320**, 1143.
Skoldstam L., *Nord Med.*, 1989, **104**, 112.
Specker B. L., Black A., Allen L., Morrow F., *Am. J. Clin. Nutr.*, 1990, **52**, 1073.


STEFANO CAGLIANO

## NUTRIZIONE ENTERALE

F. *nutrition entérale.* - I. *enteral nutrition.* - T. *enterale Ernährung.* - S. *enteral nutricion.*

SOMMARIO



### Definizione

Si intende per *nutrizione enterale*, la somministrazione artificiale di sostanze nutritive nel tratto gastrointestinale eseguita, a scopo terapeutico, attraverso apposite sonde.

In base alle necessità cliniche, la n. e. può permettere la somministrazione dei nutrienti a diversi livelli del tratto gastrointestinale. Condizione necessaria per la sua attuazione è l'integrità anatomica e funzionale di un tratto di intestino tenue di almeno 60-100 cm, capace di assorbire le sostanze nutritive artificialmente introdotte. Viceversa l'integrità anatomica e funzionale dell'esofago, dello stomaco, del duodeno e del colon non sono indispensabili per il trattamento nutrizionale enterale, né lo sono le attività enzimatico-digestive delle principali ghiandole dell'apparato digerente (fegato e pancreas). Infine la n. e. può essere realizzata anche indipendentemente dalla collaborazione del paziente.

La n. e. può, a seconda delle necessità, integrare o sostituire per intero la dieta orale dell'individuo e, nell'ambito delle tecniche di nutrizione artificiale, si affianca alla nutrizione parenterale nell'intento di correggere numerosi stati di malnutrizione di origine sia organica che funzionale.

**TAB. I. INDICAZIONI DELLA NUTRIZIONE ENTERALE**

| |
|---|
| Stati ipercatabolici (sepsi, ustioni, etc.) |
| Malnutrizione neoplastica |
| Stenosi o fistole del tratto gastrointestinale |
| Pancreatiti acute e croniche |
| Sindrome dell'intestino corto da esclusioni o da resezioni estese |
| Malattie infiammatorie gastrointestinali (esclusa la fase acuta) |
| Altre sindromi da malassorbimento gastrointestinale |
| Malnutrizione chirurgica |
| Malnutrizione pediatrica |
| Lesioni del S.N.C. con compromissione della masticazione e della deglutizione |
| Anoressia mentale |

### Indicazioni

Il trattamento nutrizionale enterale trova teoricamente indicazione in tutti gli stati di malnutrizione in cui è conservata l'integrità anatomica e funzionale di un adeguato tratto gastrointestinale. Di conseguenza, le possibili applicazioni della n. e. sono assai numerose, comprendendo varie condizioni morbose di ordine sia internistico che chirurgico (tab. I).

Le controindicazioni assolute alla n. e. sono rappresentate dagli stati occlusivi o subocclusivi intestinali, dalle malattie infiammatorie intestinali in fase acuta, dalle patologie infiammatorie intestinali che ne compromettano in modo importante la capacità assorbente (quali rettocolite ulcerosa acuta, morbo di Crohn ileale acuto, etc.), infine dalle resezioni e dalle esclusioni totali o subtotali del piccolo intestino.

### Caratteristiche delle miscele nutritive

La n. e. può essere condotta utilizzando prodotti naturali miscelati in forma liquida o semiliquida. Queste diete, definite «naturali», sono poco costose, ma hanno lo svantaggio di una composizione dei nutrienti non sempre ben precisata. Oltre a ciò, le diete naturali sono esposte al rischio di contaminazione batterica e solitamente presentano un'alta viscosità, per cui la loro somministrazione impone l'uso di sonde nutrizionali di calibro elevato.

Alle miscele naturali sono state preferite negli ultimi anni le miscele artificiali chimicamente definite, delle quali sono esattamente note la composizione analitica, l'osmolarità ed il residuo non assorbibile. Queste miscele alimentari presentano bassa viscosità e sono disponibili sotto forma di polveri da sciogliere in acqua o già diluite in soluzioni sterili. In relazione alle caratteristiche dei componenti chimici esse possono essere suddivise nei tre gruppi seguenti.

1. *Diete elementari o monomeriche.* – In queste diete le sostanze nutritive sono presenti in forma predigerita. La componente proteica è rappresentata da aminoacidi e/o oligopeptidi; quella glicidica da oligo-monosaccaridi (privi di lattosio); quella lipidica da trigliceridi a catena media.

Le componenti nutritive delle miscele elementari sono quindi già disponibili per l'assorbimento nel piccolo intestino, indipendentemente dalle capacità digestive del paziente. Il loro unico in-



Digitized by Google

conveniente consiste nell'alta osmolarità (circa 350 mOsm/l), che condiziona direttamente le modalità di somministrazione e che richiede spesso l'aggiunta alla terapia di preparati antidiarroici. Per lo stesso motivo il carico nutrizionale giornaliero raggiungibile con le diete elementari è inferiore a quello ottenibile con altre formulazioni e non supera mediamente le 1600 kcal/*die*. Le diete elementari sono pertanto utilizzabili come apporti nutrizionali complementari all'alimentazione parenterale.

2. *Diete semielementari o polimeriche*. – Le diete semielementari presentano una osmolarità più bassa di quelle elementari (250 mOsm/l) e possono inoltre essere facilmente rese palatabili e quindi somministrabili *per os*. Il loro assorbimento intestinale, peraltro, implica la conservazione di una adeguata capacità digestivo-assorbente. In queste preparazioni la componente proteica è rappresentata da lisati di proteine nobili (caseina, albume d'uovo) sotto forma di polipeptidi; quella glicidica da maltodestrine; quella lipidica da miscele di oli vegetali e trigliceridi a catena media. Le diete semielementari consentono un apporto nutritivo elevato (circa 2500-3000 kcal/*die*) e pertanto possono costituire l'unica fonte di alimentazione.

3. *Diete modulari*. – Le diete modulari sono formulate nell'intento di coprire fabbisogni nutrizionali peculiari e possono fornire una alimentazione sostitutiva completa o integrare la dieta naturale del paziente. Sono disponibili miscele nutritive costituite da aminoacidi o peptidi per la parte proteica; monosaccaridi e/o oligosaccaridi per quella glicidica; grassi vegetali o trigliceridi a catena media per quella lipidica. Le diete modulari sono utilizzate nei pazienti con patologie concomitanti alla malnutrizione, quali il diabete, l'insufficienza renale cronica, le dislipidemie gravi, che richiedono una particolare formulazione dietetica. Ad es. il diabetico malnutrito viene trattato con miscele dietetiche in cui l'apporto calorico è prevalentemente assicurato dalle componenti proteica e lipidica, mentre la frazione glicidica è ridotta.

Le diete modulari, utilizzate nei pazienti con patologie complesse, richiedono ovviamente un più attento controllo delle condizioni cliniche e dei parametri di laboratorio.

Tutte le diete a formula definita sono ovviamente integrate da elettroliti, oligoelementi e vitamine secondo dosaggi ormai standardizzati (tab. II).

### Vie e modalità di somministrazione

Le miscele nutritive possono essere somministrate *per os* nei soggetti che non presentano anoressia né malattie esofago-gastriche stenosanti. La loro funzione è di integrare l'alimentazione naturale, nell'intento di correggere deficit nutrizionali parziali (ad es. ipoprotidemia), o di forzare l'introito di substrati alimentari di alto valore calorico e plastico. Nei pazienti anoressici o nelle stenosi del tratto gastrointestinale superiore, le miscele nutritive possono essere somministrate solo mediante sonde nasoenteriche o enterostomie a minima. Le sonde nasogastriche o faringogastriche sono indicate nei pazienti anoressici o in quelli affetti da patologia esofago-cardiale; le sonde nasodigiunali e le digiunostomie a minima trovano indicazione nelle patologie gastriche, duodenali e pancreatiche o nelle fistole bilio-pancreatiche.

Le sonde nutrizionali devono essere costituite da materiale soffice, non irritante, e devono avere calibro piccolo, ma sufficiente a mantenere un adeguato flusso delle sostanze nutritive. Le sonde più utilizzate sono realizzate in silicone ed eritrotano con diametro interno compreso tra 6 ed 8 Fr (1,8-2,5 mm). Esse sono ben tollerate anche per lunghi periodi, non sono gravate da complicanze meccaniche locali quali le lesioni esofagee da decubito o da reflusso gastroesofageo.

Le sonde nasoenteriche sono solitamente dotate di una guida metallica che ne facilita l'introduzione e la progressione e che consente un controllo radiografico del loro posizionamento. Esse sono provviste di una punta (contenente mercurio) che permette il loro posizionamento ideale sfruttando la peristalsi intestinale.

Le sonde per enterostomia nutrizionale a minima sono fornite di sistemi di ancoraggio alla cute e possono essere mantenute in funzione per lunghi periodi (mesi o anni). Le digiunostomie nutrizionali a minima possono essere realizzate in anestesia locale o nell'ambito di interventi laparotomici. La digiunostomia a minima è una tecnica di recente realizzazione clinica, resa possibile dalla disponibilità di sonde nutrizionali di piccolo calibro costituite da materiale sintetico inerte. La tecnica prevede l'introduzione nel lume intestinale della sonda, la sua fissazione all'ansa mediante tunnellizzazione, la sua fissazione alla parete anteriore dell'addome e la sua esteriorizzazione cutanea con ancoraggio. Queste manovre sono rese possibili per la disponibilità di set opportunamente allestiti. La sonda può poi essere collegata a pompe nutrizionali peristaltiche.

Le modalità di somministrazione delle miscele nutritive sono correlate alla via di introduzione nel tratto gastrointestinale. Nei pazienti non anoressici, la n. e. può essere attuata con la metodica dei «piccoli sorsi», che consiste nella somministrazione *per os* di boli di miscele nutritive, frazionati nelle 24 h. Con questo metodo, che affianca la regolare cadenza dei pasti, si può incrementare in modo sensibile l'introito nutrizionale fino a raggiungere le 3500-4000 kcal/*die*. La metodica richiede l'uso di miscele nutritive fluide e di gusto gradevole.

Qualora la via di somministrazione dei nutrienti sia costituita da una sonda nasoenterica o digiunostomica, l'infusione può essere attuata a caduta gravitazionale oppure mediante apposite nutripompe che consentono un'erogazione costante e uniforme. Le nutripompe, che sono facoltative nella somministrazione di miscele nutritive per via nasogastrica, divengono indispensabili nelle infusioni dirette dei nutrienti nel piccolo intestino. Le soluzioni nutritive possono essere infuse in modo continuo nell'arco delle 24 h o in modo ciclico, ad es. solo di notte.

**TAB. II. CONTENUTO ELETTROLITICO, MINERALE E VITAMINICO MEDIO DELLE MISCELE NUTRITIVE ENTERALI A FORMULA DEFINITA (× 100 ml)**

| | | | |
|---|---|---|---|
| Potassio | mg 140 | Fosforo | mg 93,3 |
| Calcio | mg 66,6 | Sodio | mg 66,6 |
| Cloruro | mg 94 | Magnesio | mg 26,6 |
| Ferro | mg 1,2 | Zinco | mg 1,0 |
| Manganese | mg 0,2 | Rame | mg 0,1 |
| Iodio | μg 10 | Colina | mg 20 |
| Ac. pantotenico | mg 0,67 | Ac. folico | μg 26,6 |
| Biotina | μg 20 | Vit. K | μg 6,67 |
| Vit. A | U.I. 333 | Vit. $D_3$ | U.I. 26 |
| Vit. E | U.I. 2 | Vit. C | mg 6 |
| Vit. PP | mg 1,33 | Vit. $B_1$ | mg 0.15 |
| Vit. $B_2$ | mg 0,17 | Vit. $B_6$ | mg 0.2 |
| Vit. $B_{12}$ | μg 0,40 | | |

### Criteri generali di esecuzione

La corretta impostazione del trattamento nutrizionale enterale deve tenere conto del fabbisogno nutrizionale del paziente, della via di somministrazione dei nutrienti e delle condizioni anatomiche e funzionali del piccolo intestino. Il fabbisogno nutrizionale del paziente varia ampiamente in relazione alla patologia di base e all'entità del catabolismo proteico-muscolare (tab. III).

La via di somministrazione dei nutrienti condiziona la scelta del carico osmolare delle soluzioni impiegate. Possono venire impiegate soluzioni a elevata osmolarità nelle somministrazioni per via orale o attraverso sondino nasogastrico; nelle somministrazioni digiunali il carico osmolare deve essere contenuto al fine di evitare episodi di diarrea osmotica, con conseguente peggioramento della malnutri-

TAB. III. FABBISOGNO ENERGETICO E PROTEICO IN VARIE CATEGORIE DI PAZIENTI DA SOTTOPORRE A NUTRIZIONE ENTERALE

| | Energia *pro die* (kcal) | Proteine *pro die* (g) |
|---|---|---|
| Pazienti anoressici | 1500-2000 | 45-75 |
| Pazienti chirurgici (assistenza post-operatoria) | 2000-3500 | 75-125 |
| Stati ipercatabolici (sepsi, ustioni) | 3500-5000 | 125-300 |

zione. Le condizioni anatomiche e funzionali del piccolo intestino devono essere precisamente valutate, perché da esse dipende la giusta scelta delle soluzioni nutritive più idonee. Una buona funzionalità gastrointestinale consente infatti l'uso di miscele nutritive naturali o semielementari, mentre precarie condizioni anatomofunzionali gastrointestinali devono invece consigliare il ricorso a diete elementari.

Il trattamento nutrizionale ha come obiettivo principale il soddisfacimento ottimale del fabbisogno alimentare del paziente, fornendo un adeguato apporto in acqua, glicidi, protidi, lipidi, elettroliti, oligoelementi e vitamine. Uno schema nutrizionale di base, che risponde ai requisiti sovraesposti, è riportato nella tab. IV. La somministrazione nutrizionale inizia a bassi dosaggi, onde saggiare la tollerabilità del preparato dietetico, e viene progressivamente incrementata fino al raggiungimento del carico nutrizionale ottimale. Talvolta l'obiettivo è raggiungibile facilmente, altre volte occorre usare una particolare cautela

TAB. IV. NUTRIZIONE ENTERALE, FABBISOGNO DI BASE (per kg peso corporeo)

| | |
|---|---|
| Acqua (ml) | 30-45 |
| Azoto (g) | 0,17-0,25 |
| Energia (kcal) | 35-45 |
| Sodio (mmoli) | 0,9-1,2 |
| Potassio (mmoli) | 0,7-0,9 |
| Minerali (mmoli) | 0,5-0,75 |
| Oligoelementi, vitamine idro- e liposolubili | Secondo indicazioni OMS |

TAB. V. MONITORAGGIO CLINICO E STRUMENTALE DEL PAZIENTE SOTTOPOSTO A NUTRIZIONE ENTERALE

| | |
|---|---|
| *Quotidianamente*: | Volume urinario<br>Frequenza delle scariche alvine<br>Peso corporeo |
| *Bisettimanalmente*: | Esame emocromocitometrico<br>Azotemia e glicemia<br>Quadro elettrolitico ($K^+$,$Na^+$,$Cl^-$,$Ca^{2+}$,$Mg^{2+}$)<br>Esame delle urine |
| *Settimanalmente*: | Transaminasi e bilirubina<br>Elettroforesi proteica del siero<br>Transferrinemia<br>Complementemia<br>Creatininemia<br>Lipidogramma |

nell'aumentare la quantità e la concentrazione delle miscele nutritive, correggendo la miscela o aggiungendo farmaci antidiarroici. Nei pazienti diabetici, nefropatici ed epatopatici, l'apporto nutrizionale deve essere modulato sulle specifiche caratteristiche cliniche. Nell'insufficiente renale cronico, ad es., la miscela nutritiva deve contenere una bassa quota proteica.

La n. e. richiede un adeguato monitoraggio clinico e strumentale, che ha la duplice funzione di prevenirne le complicanze e di verificarne l'efficacia. Il monitoraggio si articola in maniera assai varia: comprende la valutazione giornaliera del peso del paziente, del volume urinario e della frequenza delle scariche alvine; la valutazione bisettimanale della crasi ematica, del quadro elettrolitico, dell'azotemia e del profilo glicemico; la valutazione settimanale dei principali indici bioumorali nutrizionali (albuminemia, transferrinemia, complementemia). Nella tab. V sono schematizzate le principali caratteristiche del monitoraggio clinico-strumentale.

**Complicanze**

Le complicanze della n. e. possono essere distinte in metaboliche, ricollegabili ad una somministrazione inadeguata dei nutrienti, e meccaniche, solitamente secondarie all'uso delle sonde nutrizionali. Fra le prime la diarrea osmotica è la più frequente, è solitamente dovuta all'iperosmolarità delle soluzioni nutritive o alla loro troppo rapida infusione. Essa può essere controllata aumentando la diluizione dei nutrienti, riducendone quindi l'osmolarità, o rallentando adeguatamente l'infusione. Spesso la diarrea osmotica è accompagnata da nausea e da dolori addominali per il controllo dei quali può essere utile la somministrazione di antispastici e antiperistaltici. Complicanze metaboliche meno frequenti sono rappresentate dalla disidratazione e dalla iperglicemia. Durante i trattamenti nutrizionali enterali protratti possono comparire deficit nutrizionali, talvolta imprevedibili, legati a carenze vitaminiche, minerali e di oligoelementi.

Fra le complicanze meccaniche, le più frequenti sono l'ostruzione e la fuoriuscita accidentale delle sonde nutrizionali, che impongono la sospensione momentanea del trattamento nutrizionale e il successivo riposizionamento della sonda. La dislocazione accidentale dei cateteri digiunostomici in cavità addominale è una complicanza rara e necessita di una immediata manovra di riposizionamento. Complessivamente le complicanze della n. e. sono poco frequenti (2-10% dei casi), poco rilevanti e facilmente correggibili.

**Valore terapeutico della nutrizione enterale**

La n. e. è certamente una metodica valida a salvaguardare lo stato nutrizionale del paziente; infatti, nei trattamenti a breve, ma soprattutto in quelli a lungo termine, sono documentabili significativi incrementi degli indici clinici e bioumorali di pertinenza nutrizionale. A differenza della alimentazione parenterale la n. e. sfrutta, quale via di assorbimento dei nutrienti, il tratto gastrointestinale. In questo modo l'assorbimento delle miscele nutritive risulta fisiologico, sono meno frequenti e importanti le complicanze metaboliche, risulta ben documentabile una migliore azione anabolica del trattamento.

Il rapporto costi-benefici, rispetto alla alimentazione parenterale, risulta favorevole alla n. e. che necessita di un monitoraggio clinico e strumentale meno impegnativo e comporta l'utilizzazione di materiali meno costosi. Le soluzioni nutritive a formula definita hanno costi relativamente contenuti, sono facilmente conservabili e preconfe-





Digitized by Google

zionate secondo criteri di sterilità. L'estrema varietà di soluzioni nutritive a formula definita disponibili, consente di scegliere il regime nutrizionale ottimale per le esigenze di ciascun paziente.

La n. e. ha ridotto considerevolmente la morbosità e la mortalità in numerose situazioni patologiche caratterizzate da un grave quadro di malnutrizione, tra cui, in particolare, le fistole gastrointestinali, l'anoressia mentale, la sindrome dell'intestino corto, le malattie infiammatorie gastrointestinali.

La relativa facilità di gestione della tecnica, i suoi costi contenuti e il minimo impegno di personale qualificato, hanno consentito l'estensione del trattamento nutrizionale enterale, oltre che in ambito ospedaliero, anche a pazienti in regime domiciliare. In casi selezionati l'infusione domiciliare delle soluzioni nutritive può essere condotta in modo ciclico (ad es. di notte), consentendo al paziente trattato una discreta autonomia e la possibilità di un reinserimento sociale e talvolta lavorativo. Nei pazienti affetti da eteroplasie del tratto gastrointestinale in fase avanzata, nei quali si instaura rapidamente un quadro di malnutrizione globale grave, la n. e. domiciliare consente di rallentare in modo sensibile il decadimento del patrimonio nutrizionale. Ciò si traduce in un miglioramento della qualità e quantità della vita residua, in una minore suscettibilità alle complicanze settiche per le quali si renderebbero altrimenti necessarie impegnative terapie farmacologiche o la riospedalizzazione di questi pazienti.

**Bibliografia**

Di Matteo G., *Arch. Atti Soc. It. Chir.*, 1989, vol. II, Pozzi, Roma.
Gaggiotti G., Masera N., *Il polso*, settembre 1984.
Rombeau J. L., Caldwell M. D., *Enteral and Tube Feeding*, 1984, Saunders, Philadelphia.
Shizgal H. M., *Parenteral and Enteral Nutrition*, in Greger W. P. *et al.* eds., *Ann. Rev. Med.*, 1991, **42**, 549-565.

SANTO BRESSANI DOLDI





Digitized by Google

# O

## OBESITÀ [v. vol. X, col. 1349]

SOMMARIO



### Classificazione e patogenesi

Da lungo tempo si è proposto di distinguere varie forme di obesità in base alla distribuzione del tessuto adiposo ed è stato rilevato che la localizzazione prevalente del grasso corporeo condiziona la frequenza delle complicanze. Negli ultimi anni questo criterio morfologico di classificazione è stato ripreso e si è proposto di suddividere l'o. in due forme distinte: le *o. viscerali* e le *o. periferiche*. La catalogazione dei pazienti obesi nell'uno o nell'altro tipo può venire effettuata sulla base del rapporto fra circonferenza alla cintura e circonferenza dei fianchi, misurata all'altezza del gran trocantere, oppure, con maggiore precisione, sulla base di una misura della quantità di grasso ottenuta in due sezioni trasversali mediante tomografia assiale computerizzata.

Gli studi finora effettuati hanno accertato che la predominanza del tessuto adiposo nella regione addominale rispetto ai glutei e ai fianchi è associata con la presenza di numerose alterazioni metaboliche come l'ipertrigliceridemia, l'intolleranza al glicoso, la resistenza insulinica e la ridotta clearance dell'insulina, e con una maggiore frequenza di alterazioni cardiovascolari. È verosimile che questa maggiore presenza di disturbi metabolici nell'o. viscerale sia dovuta al fatto che in questa forma gli acidi grassi liberi rilasciati dal tessuto adiposo addominale vengono convogliati in maggior concentrazione al fegato.

Come è noto, la patogenesi dell'o. è stata attribuita oltre che ad un aumentato introito calorico, ad un ridotto dispendio energetico. Recentemente è stata avanzata l'ipotesi che la diminuzione della spesa energetica dell'obeso potesse essere dovuta ad una diversa quantità percentuale dei due tipi fondamentali delle fibre muscolari, e quindi ad una minore efficienza nell'ossidazione degli acidi grassi. Al momento attuale tale ipotesi sembra sostenuta dal fatto che nei soggetti con maggiore quantità di tessuto adiposo vi è una ridotta quantità di fibre muscolari lente (tipo 1), che utilizzano acidi grassi, ed una ridotta capacità di ossidare lipidi durante uno sforzo fisico.

### Conseguenze dell'obesità

Fin da quando l'esagerato accumulo di tessuto adiposo è stato classificato fra i fenomeni morbosi, l'o. è stata considerata come una condizione capace di esercitare conseguenze negative sulla qualità e sulla durata della vita umana. Negli ultimi anni l'evidenza degli effetti negativi che l'o. esercita sull'intero organismo si è fatta sempre più chiara.

#### *Effetti sul sistema cardiovascolare*

Le conseguenze dannose più evidenti del sovrappeso si riscontrano a carico del cuore e del sistema circolatorio. È stato infatti ripetutamente dimostrato che nei soggetti di peso superiore al normale vi è una frequenza aumentata di alterazioni cardiovascolari morfologiche e funzionali. In particolare, l'ipertensione arteriosa è circa tre volte più frequente negli obesi rispetto ai non-obesi e tale fenomeno appare più evidente nei soggetti più giovani. Anche la coronaropatia è di maggiore riscontro nei soggetti in sovrappeso e si è molto discusso per stabilire se l'o. fosse in sé stessa un fattore causale diretto nella genesi delle alterazioni coronariche o se queste fossero attribuibili ad altri fenomeni che frequentemente accompagnano il sovrappeso, come l'iperlipemia, l'intolleranza al glicoso o l'ipertensione arteriosa. Per quanto alcuni studi numericamente piuttosto limitati avessero all'inizio indicato che l'o. non era un fattore indipendente di rischio, i risultati più recenti dello studio di Framingham hanno dimostrato che essa costituisce un fattore predittivo, significativo ed indipendente, della coronaropatia soprattutto nelle donne. Negli ultimi anni è stata prospettata la possibilità che la presenza delle alterazioni vascolari sia legata piuttosto che con la massa adiposa totale, con il grasso presente nella regione addominale.



Digitized by Google

Oltre alle alterazioni coronariche, l'aumento del peso corporeo provoca una serie di modificazioni della funzionalità cardiaca, la cui gravità è in rapporto diretto con l'entità del sovrappeso. L'aumento della massa corporea comporta un aumento della massa intravasale e pertanto nell'o. si instaura un sovraccarico di volume con aumento del precarico; inoltre, se non si verificano variazioni della pressione arteriosa, il sovraccarico di volume si accompagna ad una riduzione delle resistenze vascolari periferiche. L'aumento della portata viene ottenuto nell'o. mediante un aumento della gittata sistolica. Il sovraccarico di volume si accompagna dapprima ad una dilatazione del ventricolo sinistro e, in seguito, ad una ipertrofia eccentrica della parete ventricolare sinistra. Queste alterazioni non dipendono dalla ipertensione, né dall'aumento della superficie corporea; infatti è stato osservato che, nell'o., anche in assenza di ipertensione e di una qualsiasi sintomatologia cardiaca ed anche dopo aver corretto i dati per l'aumento della superficie corporea, si osserva un aumento del volume delle camere cardiache di sinistra ed un'ipertrofia della parete ventricolare. Il ventricolo sinistro, sul piano funzionale, si adatta in modo soddisfacente per lungo tempo all'aumento del precarico e pertanto la frazione di eiezione si mantiene normale nell'o. semplice. Tuttavia studi recenti hanno permesso di osservare che, anche se apparentemente la funzionalità cardiaca dell'obeso è normale, il riempimento diastolico rapido del ventricolo sinistro è alterato e la tolleranza allo sforzo è ridotta. Il sovraccarico di volume, l'ipertensione arteriosa e la coronaropatia costituiscono le premesse per lo sviluppo di uno scompenso cardiaco; così, con l'aggravarsi progressivo dell'o. si assiste molto spesso all'instaurarsi di una insufficienza cardiaca clinicamente manifesta.

Nell'o. si rileva spesso un'ipertensione polmonare che conduce ad un aumento di volume e ad un'ipertrofia delle camere cardiache di destra. Prolungandosi nel tempo, questa situazione evolve verso lo scompenso cardiaco destro.

*Effetti sul sistema respiratorio*

È noto da tempo che l'o. grave si accompagna ad alterazioni della meccanica respiratoria e ad una riduzione della superficie respiratoria con ipoventilazione alveolare cronica. Tali fenomeni possono portare ad una grave insufficienza respiratoria con ipossia, ipercapnia e ipertensione polmonare.

L'accumulo della massa adiposa nel torace e nell'addome porta ad alterazioni dei movimenti respiratori e quindi degli scambi gassosi polmonari. Così, negli obesi la *compliance* del sistema respiratorio e l'efficienza dei muscoli respiratori sono diminuite, mentre l'attività muscolare diaframmatica appare aumentata. A riposo, il volume corrente è spesso ridotto e, all'opposto, la frequenza respiratoria è aumentata. Il volume della riserva respiratoria è diminuito in misura molto evidente e questa diminuzione determina una riduzione della capacità funzionale residua e della capacità polmonare totale. Il volume residuo, invece, quando il sovrappeso raggiunge livelli molto elevati, aumenta in modo molto evidente.

Gli indici spirometrici dinamici e la capacità di diffusione polmonare dei gas non sono particolarmente alterati.

Un dato particolarmente importante è costituito dall'abbassamento della $PaO_2$ che può giungere fino ad una chiara ipossiemia. La riduzione della tensione di ossigeno è correlata con la riduzione del volume della riserva respiratoria ed è più evidente nei soggetti con o. addominale rispetto a quelli con o. periferica. Inoltre, studi recenti hanno dimostrato che nell'o. vi è una ventilazione ineguale nei vari distretti polmonari e che nelle zone polmonari basali vi sono alveoli perfusi ma non ventilati.

Nei soggetti in sovrappeso esiste un'ipercapnia che può essere dovuta a tre condizioni diverse: *a*) una depressione primitiva dei centri respiratori; *b*) un difetto della meccanica respiratoria; c) una progressiva fatica muscolare. Mentre la depressione primitiva dei centri respiratori costituisce un difetto molto raro, in molti casi la ipoventilazione alveolare è dovuta alla cosiddetta «sindrome delle apnee ostruttive nel sonno» (OSAS). Questa sindrome si osserva in circa il 30% degli obesi e consiste nella ostruzione delle prime vie aeree dovuta ad un collabimento dei tessuti che costituiscono il palato molle, la lingua e le pareti faringee, provocato dal risucchio dell'aria inspirata. Nonostante la ostruzione delle vie aeree superiori, il diaframma ed i muscoli intercostali continuano a contrarsi, cosicché viene a determinarsi una rilevante pressione negativa intratoracica. In una prima fase, quando le vie aeree sono soltanto subostruite, compare il russamento, ma quando si giunge alla ostruzione completa intermittente si possono osservare periodi di apnea notturna, che possono durare da trenta secondi a tre minuti. Le apnee notturne possono giungere ad occupare l'intera durata del sonno e provocare ipossiemia, ipercapnia, sonno instabile, aumenti transitori della pressione arteriosa polmonare e di quella sistemica e, infine, gravi aritmie cardiache. Durante gli episodi di apnea notturna la $PaO_2$ può scendere a livelli così bassi da poter provocare un danno dei tessuti.

*Obesità e neoplasie*

L'o. è in relazione, almeno sul piano statistico, con l'insorgenza delle neoplasie maligne. Nella popolazione generale la mortalità globale per cancro aumenta progressivamente con l'aumentare dell'eccedenza del peso corporeo e tale fenomeno è più evidente nelle femmine che nei maschi. Negli uomini la maggiore mortalità deriva dalla comparsa di neoplasie del colon, del retto e della prostata, mentre le donne in sovrappeso mostrano una maggiore mortalità per le neoplasie dell'endometrio, della cervice uterina, dello ovaio, della cistifellea e della mammella.

Per quanto l'aumentata massa adiposa eserciti una considerevole influenza sul metabolismo degli steroidi sessuali e sia possibile immaginare relazioni fra alterazioni ormonali ed insorgenza di alcuni tipi di neoplasie, una precisa relazione fisiopatologica fra questi fenomeni non ha trovato ancora alcuna spiegazione soddisfacente.

*Effetti su altri distretti e mortalità*

Oltre alle malattie di cui si è già parlato, l'eccesso ponderale causa alterazioni anche a carico di altri settori dell'organismo. Fra questi presentano un'evidente importanza clinica le alterazioni articolari, i disturbi della funzionalità ovarica e del ritmo mestruale, la patologia della colecisti.

Considerata nel suo complesso, l'o. è una condizione che riduce la durata della vita. È stato infatti osservato che la mortalità più bassa corrisponde ad un peso relativo che va dal 90 al 105% circa. Con l'aumentare della massa corporea aumenta anche la mortalità, che per un peso relativo del 135-145% raggiunge il 141% e per un peso del 155-165% arriva al 227%.

**Terapia**

Nell'ultimo decennio la terapia dell'o. non ha subìto rivoluzionarie modificazioni, tuttavia sono stati compiuti alcuni progressi che permettono di ottenere maggiori successi terapeutici, sia pure per periodi di tempo limitati.

Sul piano farmacologico, mentre da un lato si stanno





Digitized by Google

sperimentando nell'animale nuove molecole capaci di aumentare la spesa energetica, sono entrate nella pratica terapeutica due nuove sostanze capaci di ridurre sensibilmente l'appetito. La prima di queste è la D-fenfluramina che rappresenta l'isomero destrogiro del composto racemico — la fenfluramina — ben noto. La D-fenfluramina è, ovviamente, un farmaco serotoninergico come la fenfluramina, ma possiede una maggiore efficacia anoressizzante. Essa ha scarsi effetti collaterali, è attiva alla dose di 30 mg/*die* e raggiunge il massimo effetto sul peso corporeo dopo 4-6 mesi (v. ANORESSICI FARMACI*).

Il secondo farmaco è rappresentato dalla fluoxetina, una sostanza che inibisce la ricaptazione ed aumenta la disponibilità della serotonina cerebrale, e che possiede evidenti effetti antidepressivi (v. ANTIDEPRESSIVI FARMACI*). La fluoxetina si è dimostrata capace di ridurre l'appetito e di provocare un calo ponderale; tuttavia il breve tempo trascorso da quando è stata proposta nella terapia dell'o. non permette di sapere se questo effetto si mantiene nel tempo.

Sul piano chirurgico negli ultimi anni sono stati messi a punto alcuni interventi sullo stomaco, che mirano tutti a ridurre il volume gastrico e pertanto a diminuire la quantità di cibo che può venire ingerita nel corso di un pasto. Tali interventi, denominati gastroplastica, dividono lo stomaco in due tasche che comunicano tra loro attraverso uno stretto orifizio. La tasca superiore è di volume molto ridotto (≤ 60 ml) cosicché l'ingestione di cibo provoca rapidamente l'insorgenza di un senso di ripienezza o addirittura di nausea e/o di vomito. Dopo l'intervento il paziente diviene incapace di introdurre grandi quantità di cibo e dimagrisce in misura sensibile. Tale tipo di approccio non presenta grandi rischi chirurgici, ma evidentemente può essere realizzato solo in pazienti consapevoli dei disturbi a cui può dar luogo e disposti a sopportarli. I risultati sono soddisfacenti, ma secondo alcuni AA. dopo un certo periodo di tempo i pazienti vanno incontro ad un nuovo aumento del peso corporeo.

Sempre allo scopo di ridurre lo spazio disponibile per il cibo ingerito si è proposto di posizionare nello stomaco degli obesi, mediante l'utilizzo di una sonda endoscopica, un palloncino di materiale plastico inerte. Il palloncino può essere mantenuto in sede anche per tre mesi e induce un calo ponderale variabile a seconda delle abitudini alimentari e della disponibilità psicologica del paziente.

Come terapia collaterale, volta soprattutto a correggere particolari dismorfismi del grande obeso, sono stati proposti diversi interventi di chirurgia estetica. Questi si attuano in genere dopo che il paziente è andato incontro ad un dimagrimento sensibile attraverso provvedimenti dietetici, e dopo che il calo ponderale si è stabilizzato. Gli interventi di lipectomia sono rivolti a modellare l'addome, il seno, le cosce e le braccia. Un'altra tecnica entrata nell'uso è costituita dalla liposuzione (v.*), che permette di asportare mediante l'aiuto di una piccola cannula discrete quantità di tessuto adiposo. Una limitazione di questa tecnica è data dalla perdita ematica intraoperatoria.

**Bibliografia**

Bray G. A., Gray D. S., *Diab. Metab. Rev.*, 1988, **4**, 653.
Cohen R. D., Lewis B., Alberti K. G. M. M., Denman A. M., *The Metabolic and Molecular Basis of Acquired Disease*, 1989, Baillière Tindall, London.
Enzi G., Melchionda N., Bosello O., *L'obesità: Fisiopatologia, clinica, terapia*, 1987, Cleup, Padova.
Garfinkel L., *Ann. Intern. Med.*, 1985, **103**, 1073.
Garrow J. S., *Obesity and Related Diseases*, 1988, Churchill Livingstone, Edinburgh.
Health Implications of Obesity. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement, *Ann. Intern. Med.*, 1985, **103**, 1073.
Melchionda N., Enzi G., Bosello O., *Obesità '88: Fisiopatologia, clinica, terapia*, 1989, Edizioni Luigi Parma, Bologna.
*The Medical Letter*, 1986, 15 ottobre, n. 20, 83.
Wade A. J., Marbut M. M., Rount J. M., *Lancet*, 1990, **2**, 805.

GIOVANNI FEDERSPIL E CARLO B. DE PALO

**OCCHIO** [v. vol. X, col. 1392]

## CHIRURGIA

SOMMARIO



### Traumatologia oculare

Le lesioni traumatiche del bulbo oculare rappresentano la causa più frequente di cecità nei paesi industrializzati. In relazione all'intensità e al tipo di trauma (contusivo o perforante, diretto o indiretto, meccanico, chimico, da energia radiante o elettrica) possono essere interessate le strutture oculari più esterne come palpebre, congiuntiva, cornea, sclera e/o strutture oculari interne come iride, corpo ciliare, cristallino, coroide, retina e nervo ottico.

*Lesioni traumatiche della cornea*

Si accompagnano a lesioni della congiuntiva e possono essere causate da traumi meccanici, da sostanze chimiche o da energia radiante.

1. *Lesioni meccaniche.* – Sono dovute più frequentemente a traumi diretti e possono essere assai lievi, anche se dolorose, come nel caso delle semplici abrasioni dell'epitelio corneale o più gravi come nel caso di ferite perforanti. Queste ultime possono complicarsi con lesioni delle strutture interne del bulbo oculare (iridodialisi, cataratta, rotture o emorragie retiniche), o infezioni (endoftalmiti, panoftalmiti), o accompagnarsi alla ritenzione endobulbare di corpi estranei che devono essere sempre ricercati con metodiche radiografiche ed ecografiche.

Le ferite corneali non perforanti possono essere superficiali ed eventualmente associarsi alla ritenzione di corpi estranei facilmente asportabili (per es. con un piccolo tampone di cotone imbevuto di soluzione fisiologica o con una sgorbia) o approfondirsi nello stroma con esiti cicatriziali spesso invalidanti.

Una complicanza abbastanza frequente dei traumi superficiali della cornea, e in particolare di quelli dovuti ad agenti taglienti, per es. fogli di carta, colpi d'unghia, aghi, spazzole rigide, accessori per l'applicazione di cosmetici, è data dalla cosiddetta «sindrome delle erosioni corneali recidivanti» che consegue a un difetto nella riparazione della membrana di Bowman e spesso richiede terapie prolungate nel tempo (bendaggio, pomate riepitelizzanti, lenti a contatto terapeutiche).

La diagnosi differenziale tra le ferite perforanti e non perforanti della cornea spesso richiede l'intervento dell'oculista; tuttavia è importante, per la terapia, saper riconoscere segni di facile individuazione di una perforazione corneale, per es. il prolasso dell'iride con irregolarità del profilo pupillare, una marcata ipotonia bulbare e l'assenza o l'appiattimento della camera anteriore dell'occhio.

La diagnosi delle abrasioni della cornea è resa più agevole dall'istillazione di fluoresceina nel sacco congiuntivale; tale sostanza colora di giallo-verde la zona di cornea mancante dell'epitelio (fig. 1).



Digitized by Google

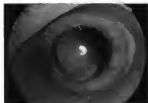



Fig. 1. Estesa emorragia sottocongiuntivale e abrasione corneale (colorata con fluoresceina) da lesione contusiva del bulbo oculare.

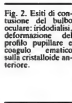



Fig. 2. Esiti di contusione del bulbo oculare: iridodialisi, deformazione del profilo pupillare e coagulo ematico sulla cristalloide anteriore.

La terapia delle abrasioni corneali prevede l'impiego di pomate antibiotiche associato a bendaggio e talvolta a midriatici.

Nelle ferite perforanti della cornea non si devono usare le pomate, perché queste potrebbero entrare in camera anteriore, mentre i midriatici devono essere ad azione breve e possibilmente evitati nelle ferite corneali periferiche per il rischio di impegno irideo; si deve inoltre prescrivere il bendaggio e associare una terapia antibiotica per via generale.

L'oculista provvederà all'eventuale intervento chirurgico riparativo che inizialmente consiste nella sutura della ferita perforante con riduzione e/o asportazione di eventuali tessuti prolassati. La cheratoplastica non rappresenta solitamente un intervento di urgenza, ma mira a correggere dopo alcuni mesi gli esiti cicatriziali del trauma.

2. *Lesioni da sostanze chimiche.* – Le lesioni della cornea e della congiuntiva provocate da sostanze chimiche raggiungono gravità diversa in relazione al tipo di caustico (acido, alcalino, sale di metallo pesante), all'estensione e alla durata del contatto.

Le lesioni della congiuntiva variano dalla lieve iperemia alla chemosi con o senza emorragie, fino alla necrosi coagulativa con esiti cicatriziali (*simblefaron*) mentre le lesioni corneali possono essere rappresentate da una cheratite puntata superficiale, da edema della cornea con pieghe della Descemet e bolle epiteliali o da una necrosi coagulativa più o meno diffusa con possibile perforazione della cornea.

L'interessamento corneale si accompagna generalmente alla presenza di una reazione uveale anteriore (irite) e può esitare nella perdita della trasparenza per la formazione di cicatrici con neovasi. In generale, gli alcali (soda caustica, calce viva o spenta, ammoniaca) per la loro capacità di diffusione nella cornea hanno effetti più gravi degli acidi (ac. solforico, cloridrico, nitrico).

La terapia consiste nel lavaggio immediato e abbondante con acqua, seguito da medicazioni con midriatici, pomate antibiotiche e sostanze neutralizzanti. La terapia chirurgica si prefigge la correzione degli esiti cicatriziali palpebrali e congiuntivali e il ripristino della trasparenza corneale (*cheratoplastica*).

3. *Lesioni da energia radiante.* – Tra le cheratocongiuntiviti da energia radiante, merita un cenno per la sua frequenza la forma dovuta all'esposizione ai raggi U.V e denominata *cheratocongiuntivite attinica*. Si riscontra dopo l'esposizione a lampade abbronzanti, dopo l'uso di saldatrici elettriche o a ossigeno o dopo permanenza per alcune ore, senza occhiali protettivi, in ambienti assolati con forte riflessione della luce solare (montagne innevate o spiagge).

Tra l'esposizione e la comparsa dei sintomi oculari intercorre tipicamente un intervallo di 6-10 h, trascorso il quale il paziente lamenterà progressivamente irritazione, senso di corpo estraneo, fotofobia, dolore e blefarospasmo.

La terapia si basa sulla somministrazione di cicloplegici, pomate antibiotiche e bendaggio per circa 48-72 h.

4. *Ustioni.* – Quelle da contatto diretto della cornea, per es. da sigaretta o da metalli ad alto punto di fusione, possono produrre cicatrici permanenti. In modo analogo si comporta anche il vetro fuso mentre lesioni meno gravi sono prodotte da metalli con basso punto di fusione (piombo, stagno, zinco).

La terapia delle ustioni corneali prevede l'impiego di midriatici, pomate antibiotiche e bendaggio, talvolta la cheratoplastica.

### *Lesioni traumatiche della sclera*

In generale hanno origine meccanica o chimica.

1. *Lesioni meccaniche.* – Possono comportare la rottura della sclera sia a seguito di un'azione contusiva diretta o indiretta, particolarmente se vi erano zone preesistenti di fragilità sclerale (stafilomi miopici, esiti di scleriti), sia per effetto di un agente perforante. Le ferite e le rotture della sclera possono essere complicate dal prolasso e dalla lesione delle strutture oculari interne, in particolare uvea, retina, cristallino e vitreo, dall'insorgenza di infezioni endoculari e talvolta dalla ritenzione di corpi estranei endobulbari. Le rotture della sclera da traumi contusivi si verificano solitamente in prossimità del *limbus* sclerocorneale o della papilla ottica; nel primo caso, se la congiuntiva è integra, è possibile osservare la lussazione sottocongiuntivale del cristallino.

È da tenere presente l'eventualità che lesioni apparentemente distanti dal bulbo oculare, per es. le perforazioni del sopracciglio, possano accompagnarsi a ferite sclerali perforanti. La terapia delle lesioni meccaniche della sclera è chirurgica e consiste, quando possibile, nella sutura della breccia sclerale, altre volte nell'enucleazione del bulbo oculare (v. sotto: *chirurgia demolitiva del bulbo oculare*).

2. *Lesioni da sostanze chimiche.* – Acquistano rilevanza nei casi più gravi di causticazione corneocongiuntivale per la presenza di fenomeni necrotizzanti che possono giungere fino alla perforazione del bulbo.

### *Lesioni traumatiche dell'uvea*

Nelle lesioni traumatiche del bulbo oculare è frequente l'interessamento uveale; spesso si riscontra una reazione iridea che si manifesta con corpuscolatura e aumento del contenuto proteico dell'umore acqueo (irite traumatica).

I traumi contusivi più gravi possono accompagnarsi a una midriasi o a una miosi traumatica a volte irreversibile.

L'iride può inoltre essere lesa direttamente in corso di ferite perforanti della cornea o indirettamente nelle contusioni del bulbo oculare producendosi iridotomie o disinserzioni della radice iridea (iridodialisi; fig. 2). Queste ultime, in particolare, possono dare origine a uno stravaso ematico in camera anteriore (ipoema) che di solito si riassorbe completamente, ma che talvolta, specialmente se recidivante, può complicarsi con una colorazione ematica della cornea o un glaucoma secondario.





Digitized by Google

Le soluzioni di continuo dell'iride possono richiedere un intervento chirurgico riparativo, oltre che a scopo estetico, quando si verifichi una diplopia monoculare o una fastidiosa fotofobia. In alternativa, se tollerate, possono essere impiegate lenti a contatto cosmetiche colorate.

Il corpo ciliare è solitamente leso in corso di ferite perforanti o di gravi traumi contusivi con recessione dell'angolo della camera anteriore. A tali lesioni conseguono imponenti emorragie nel corpo vitreo.

Le ferite perforanti che si complicano con lesioni della iride e/o del corpo ciliare sono inoltre aggravate dal rischio di un'uveite dell'occhio controlaterale non interessato dal trauma (*oftalmia simpatica*). Il timore di tale complicanza, espressione di una reazione immunitaria verso antigeni uveoretinici indotta dal trauma oculare, non può essere attualmente ritenuto un'indicazione di per se stessa sufficiente all'enucleazione del bulbo traumatizzato. In realtà, la disponibilità e l'efficacia delle terapie immunosoppressive spesso consente un buon controllo della flogosi uveale qualora questa si manifesti nell'o. non traumatizzato (*simpatizzato*). L'intervallo di tempo che intercorre tra il trauma dell'o. simpatizzante e l'insorgenza dell'uveite nell'o. controlaterale varia da un minimo di 14 giorni fino ad anche 20 anni; nel 50% dei casi essa si verifica entro 3 mesi e nell'80-90% entro 2 anni dal trauma oculare. L'incidenza attuale è dello 0,2-1% delle ferite perforanti.

Le lesioni della coroide possono conseguire a traumi perforanti o a traumi contusivi. I traumi perforanti di solito ledono sia la coroide che la retina e possono accompagnarsi a gravi emorragie vitreali, o essere seguiti da un distacco tardivo della retina, secondario agli esiti cicatriziali. I traumi contusivi della coroide possono produrre ematomi, con distacco di questa o della retina, o anche rotture coroideali. Queste ultime, spesso, si localizzano al polo posteriore e possono comportare un deficit irreversibile dell'acuità visiva.

La terapia delle lesioni coroideali è medica (fibrinolitici, antiemorragici, vasoprotettori).

*Lesioni traumatiche del cristallino*

Solitamente meccaniche ma anche chimiche o da energia radiante, sono rappresentate dalla cataratta e dalla sublussazione o lussazione della lente.

La cataratta può essere causata da traumi contusivi o perforanti, da agenti chimici, prevalentemente alcali, o da radiazioni. I traumi contusivi o perforanti del bulbo possono produrre un'opacità circoscritta del cristallino (a rosetta, puntiforme, nodulare) che giustifica un atteggiamento d'attesa in assenza di un notevole deficit visivo, o una cataratta totale che solitamente richiede un intervento di asportazione della lente opacata.

Nelle ferite perforanti la ritenzione di corpi estranei di rame o ferro (fig. 3), talvolta misconosciuti, comporta spesso l'insorgenza di una cataratta che per le sue caratteristiche («a girasole» nella calcosi, con depositi rosso-brunastri nella siderosi) consente di risalire a un trauma oculare inizialmente sottovalutato.

Forme particolari di cataratta da energia radiante sono quella da scariche elettriche, da calore tra i lavoratori del vetro o degli altoforni e la cataratta da radiazioni in pazienti sottoposti a radioterapie perioculari o negli operatori adibiti alla fabbricazione o all'uso di sorgenti ionizzanti.

La sublussazione o la lussazione traumatica del cristallino si verifica per la rottura parziale o totale delle fibre della zonula di Zinn ed è più frequente in soggetti con sindrome di Marfan, di Marchesani od omocistinuria. La lussazione può avvenire in camera anteriore o vitreale e di solito richiede un intervento chirurgico, talvolta urgente, di rimozione della lente.

*Lesioni traumatiche della retina*

La retina può essere coinvolta direttamente da un trauma perforante o indirettamente per un trauma contusivo.

Le lesioni traumatiche più comuni sono le rotture e le emorragie che possono associarsi a lesioni analoghe della coroide. Le rotture retiniche possono complicarsi con stravasi ematici nel corpo vitreo (emovitreo) o con il distacco della retina.

Il ruolo dei traumi come causa primitiva di distacco di retina è discusso; sembrano importanti lesioni retiniche predisponenti preesistenti (degenerazioni retiniche regmatogene).

Frequente è anche l'edema post-contusivo della retina che quando coinvolge la regione maculare può essere responsabile di una grave riduzione del *visus* solitamente reversibile (edema di Berlin). In rari casi l'interessamento maculare può complicarsi con alterazioni pigmentarie o anche con la formazione di un foro maculare che compromettono irreversibilmente la funzione visiva; quando l'edema si localizza alla periferia della retina sono possibili rotture o disinserzioni retiniche tardive.

La terapia non sempre determinante nell'evoluzione del quadro clinico prevede l'uso di antiessudativi e vasoprotettori.

Forme particolari di lesioni traumatiche della corio-retina sono la «corioretinite sclopetaria», dovuta a una forte

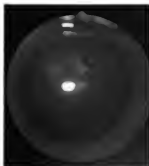



Fig. 3. Esiti di ferita perforante del bulbo oculare: ritenzione di un corpo estraneo ferroso nel cristallino (midriasi farmacologica).

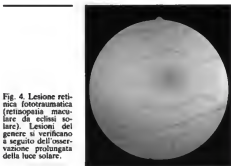



Fig. 4. Lesione retinica fototraumatica (retinopatia maculare da eclissi solare). Lesioni del genere si verificano a seguito dell'osservazione prolungata della luce solare.





Digitized by Google

contusione (non perforazione) del bulbo oculare con un corpo estraneo che resta ritenuto nell'orbita, e le lesioni retiniche da emboli grassi dopo fratture delle ossa lunghe o compressione improvvisa del torace (retinopatia di Purtscher).

Tra le lesioni corioretiniche da energia radiante, merita di essere ricordata per la sua gravità la retinopatia da eclissi (fig. 4), secondaria alla fotocoagulazione della regione maculare a opera della luce solare, con esiti spesso irreversibili. Lesioni simili si osservano in casi di autolesionismo o in occasione di preannunciate apparizioni mistiche per l'osservazione prolungata del sole.

*Lesioni traumatiche del nervo ottico*

Solitamente conseguono a traumi contusivi della regione anteriore del cranio e, in particolare, della fronte che si accompagnano a fratture del canale ottico. Il dislocamento di un frammento osseo o un ematoma intracanalicolare sono più spesso le cause responsabili della compressione del nervo ottico e richiedono talvolta un intervento chirurgico urgente.

Più rara è l'avulsione completa del nervo da contraccolpo (*effetto yo-yo*) o la sua sezione a opera di agenti perforanti l'orbita.

**Bibliografia**

Deutsch T. A., Feller D. B., *Traumatologia oculare di Paton e Goldberg* (trad. ital.), 1988, Masson-Italia, Milano.
Scuderi G., Pivetti Pezzi P., Balestrazzi E. *et al.*, *Traumatismi*, in Scuderi G., Morone G., Brancato R., *Atlante di oftalmoscopia clinica*, 1986, Masson-Italia, Milano.
Spaeth G. L., *Chirurgia oftalmica* (trad. ital.), 1983, Verduci, Roma.
Toselli C., Miglior C., *Oftalmologia clinica*, 1979, Monduzzi, Bologna.

STEFANO TAMBURI

**Chirurgia demolitiva del bulbo oculare**

L'eviscerazione, l'enucleazione e l'*exenteratio* del bulbo oculare rappresentano gli interventi di chirurgia demolitiva del bulbo oculare.

L'*eviscerazione* consiste nell'asportazione del contenuto del bulbo oculare con il solo risparmio del guscio sclerale mentre con l'*enucleazione* si procede all'asportazione totale dell'o.

Talvolta, quest'ultima tecnica si accompagna anche allo svuotamento dell'orbita (*exenteratio*) che può eventualmente comprendere anche l'asportazione delle palpebre.

Le cause che più frequentemente determinano l'indicazione alla chirurgia demolitiva del bulbo oculare sono i traumi, i tumori, per es. il melanoma della coroide o il retinoblastoma, la presenza di un o. cieco e dolente, le gravi infezioni endoculari non dominabili con la terapia e che rischiano di propagarsi nella cavità orbitaria o lungo il nervo ottico nella cavità cranica.

Nel caso dei tumori si preferisce solitamente l'enucleazione, eventualmente associata allo svuotamento subtotale o totale dell'orbita (*exenteratio* subtotale o totale) quando si riscontri un'espansione extrabulbare transclerale (esofitica) della neoplasia con invasione delle strutture intraorbitarie.

Attualmente, in alcuni casi di neoplasie endoculari od orbitarie l'enucleazione e l'*exenteratio* possono essere affiancate, o talvolta sostituite, da tecniche radioterapiche o fotocoagulative e/o dalla chemioterapia che consentono un atteggiamento più conservativo.

Nei traumi oculari l'enucleazione immediata del bulbo oculare si esegue solo quando questo sia danneggiato così gravemente da rendere impossibile la ricostruzione o quando sia presente un grave prolasso della retina e, comunque, richiede sempre il consenso esplicito del paziente. Negli altri casi, è preferibile eseguire un primo tentativo di riparazione che, eventualmente, potrà comunque essere seguito dall'enucleazione quando si renderà evidente l'impossibilità di un recupero funzionale e/o risulterà elevato il rischio di infezione o di oftalmia simpatica (v. UVEITI). Il timore della comparsa di tale flogosi uveale nell'o. controlaterale non traumatizzato, non rappresenta di per se stesso un'indicazione all'enucleazione, ma richiede comunque controlli ravvicinati e ripetuti per diversi mesi.

Nel glaucoma assoluto l'enucleazione è indicata, quando altre terapie siano risultate inefficaci, allo scopo di sollevare il paziente dal dolore provocato da un o. ormai cieco.

Con finalità analoghe o a scopo estetico l'enucleazione del bulbo oculare può anche essere indicata in casi di grave atrofia (tisi del bulbo) secondari, per es., a flogosi uveali croniche.

L'eviscerazione del bulbo oculare, la più conservativa tra le tecniche di chirurgia demolitiva, è particolarmente indicata nelle gravi endoftalmiti o panoftalmiti settiche. Tale intervento, a fronte di un migliore risultato estetico, necessita di un'accurata pulizia del guscio sclerale da residui uveali (per prevenire l'insorgenza di un'oftalmia simpatica da antigeni uveali esposti) e da focolai settici (per evitarne la propagazione).

Gli interventi di eviscerazione e di enucleazione del bulbo oculare sono seguiti solitamente, in un tempo successivo all'intervento, dall'applicazione di una protesi a scopo estetico (v. PROTESI OCULARI). Quando i muscoli oculari estrinseci sono risparmiati essi possono permettere una migliore mobilità della protesi.

**Bibliografia**

Boles Carenini B., *Chirurgia oculistica*, in *Trattato di tecnica chirurgica*, 1984, UTET, Torino.
Spaeth G. L., *Chirurgia oftalmica* (trad. ital.), 1983, Verduci, Roma.

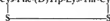
STEFANO TAMBURI

**OCCLUSIONE DENTALE**: v. ORTOGNATODONZIA (X, 1987).

## OCTREOTIDE

**Definizione e biochimica**

L'octreotide acetato è un peptide sintetico composto da otto aminoacidi e presenta una sequenza di quattro aminoacidi identica a quella dell'ormone naturale somatostatina (v.). La struttura della o. è la seguente:

```
(D)Phe-Cys-Phe-(D)Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-ol
        |                     |
        S---------------------S
```

Questa identità strutturale spiega gli effetti farmacologici simili dell'o. e della somatostatina.

**Effetti**

Come la somatostatina l'o. *a*) inibisce la liberazione di: colecistochinina, gastrina, glucagone, GH, insulina, motilina, neurotensina, polipeptide pancreatico, secretina, serotonina, VIP; *b*) inibisce la secrezione acida gastrica e della pepsina; *c*) ritarda il transito intestinale; *d*) aumenta l'assorbimento intestinale di acqua ed elettroliti; *e*) diminuisce il flusso ematico splancnico.

Rispetto alla somatostatina, l'o. è molto più potente, ha una maggiore specificità per l'inibizione del GH che del glucagone e dell'insulina e la fine della somministrazione non è seguita da un effetto di ipersecrezione ormonale (ef-





Digitized by Google

fetto *rebound*). Diversamente dall'emivita della somatostatina, che è di 2-3 min, quella dell'o. è di circa 110 min quando somministrata per via sottocutanea. Nell'applicazione clinica, questa diversa caratteristica obbliga ad usare la somatostatina per infusione continua, mentre consente di somministrare l'o. ad intervalli di tempo perché la sua azione terapeutica, dopo una singola somministrazione sottocutanea, perdura per circa 12 h.

**Applicazioni terapeutiche**

L'o. si è dimostrata utile nel trattamento dei pazienti con tumori gastrici, intestinali e pancreatici e il suo impiego terapeutico è indicato per il controllo dei sintomi nei pazienti con tumori carcinoidi metastatizzati e con tumori che secernono VIP (*vipomi*). Nei pazienti con tumori carcinoidi metastatizzati la somministrazione di o. induce un miglioramento della diarrea e del *flushing* nell'80% dei casi, che è di solito accompagnato da una diminuzione dei livelli urinari dell'ac. 5-idrossindolacetico, considerato il *marker* biochimico della sindrome. Analogamente, nei pazienti con tumori secernenti VIP, l'o. si è dimostrata efficace nell'indurre un miglioramento della diarrea nel 77-84% dei casi, spesso con una riduzione dei livelli ematici di VIP. La dose giornaliera di o. è mediamente di 100-600 μg. fino ad un massimo di 1500 μg, suddivisa in 2-3 somministrazioni. Gli effetti collaterali sono modesti e includono intolleranza al glicoso, disturbi gastrointestinali e malassorbimento.

Riferibili all'inibizione della liberazione di GH sono i risultati ampiamente favorevoli ottenuti in pazienti acromegalici trattati con o., il cui impiego appare giustificato sia come terapia da associarsi al trattamento chirurgico o radiante dell'iperfunzione ipofisaria, sia come terapia primaria nei pazienti non operabili (Vance e Harris, 1991).

L'attività biologica dell'o. permette di prevedere altri effetti terapeutici che tuttavia richiedono ulteriori conferme (trattamento preventivo di pazienti diabetici a rischio di episodi di chetoacidosi, controllo del sanguinamento da varici esofagee, accelerazione della chiusura delle fistole pancreatiche ed enterocutanee).

Altri effetti terapeutici non prevedibili sulla base degli effetti noti dell'o. e che richiedono ulteriori conferme sono: attenuazione della cefalea causata dagli adenomi ipofisari; miglioramento della psoriasi; regolarizzazione del quadro ormonale della sindrome dell'ovaio policistico.

**Bibliografia**

Bauer P., Vale W. *et al.*, *Life Sci.*, 1982, **31**, 1133.
Editorial *Lancet*, 1985, **2**, 77.
Editorial *Lancet*, 1990, **336**, 909.
Gorden P., *Ann. Intern. Med.*, 1989, **110**, 33.
Kvols L. K., Moertel C. G. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1986, **315**, 663.
Vance M. L., Harris H. G., *Arch. Intern. Med.*, 1991, **151**, 1573.
Vinik A. I., Isai S. T. *et al.*, *Am. J. Med.*, 1986, **81** (Suppl. 6B), 23.

ENRICO CORAZZIARI

## OCULOVESTIBOLARE SINDROME

*Sin.*: sindrome di Cogan.

SOMMARIO



**Introduzione**

Nel 1945 Cogan (Cogan, 1945) descrisse una sindrome caratterizzata da cheratite interstiziale non sifilitica associata a sintomi audiovestibolari come perdita dell'udito, ronzio e vertigini. Nella sindrome, rara e la cui letteratura medica è costituita in gran parte da casi clinici, possono intervenire anche manifestazioni sistemiche, come insufficienza aortica e vasculite (Cody *et al.*, 1960; Haynes *et al.*, 1980; Vollersten *et al.*, 1986). Gli esiti più gravi sono costituiti da sordità e, con minore frequenza, da cecità e morte. Il quadro è noto oggi come *sindrome oculovestibolare*, o *sindrome di Cogan*.

**Etiologia e patogenesi**

L'etiologia e la patogenesi della sindrome di Cogan sono ancora sconosciute, anche se le manifestazioni cliniche e le risultanze anatomopatologiche suggeriscono la presenza di un'infezione cronica o di un'alterazione del sistema immunitario. Dato che la sifilide congenita può essere associata a cheratite interstiziale e a sintomi audiovestibolari, le ricerche si sono rivolte anche in questa direzione. Un gruppo di ricercatori (Haynes *et al.*, 1980) ha riferito che circa l'8% dei pazienti (compresi quelli per i quali non era documentata la cheratite interstiziale e a proposito dei quali si parlava di «sindrome di Cogan atipica») avevano una falsa positività nel test sierologico della sifilide. Anche altri AA. hanno registrato occasionali test falsi positivi della sifilide in pazienti con sindrome di Cogan (Quinn *et al.*, 1958; Vollersten *et al.*, 1986); comunque tale dato non si riscontra nella maggioranza dei pazienti. Negli ultimi anni è stata identificata una nuova affezione da spirocheta, la malattia di Lyme, ma le analisi condotte in questa direzione su pazienti con sindrome di Cogan per verificare la presenza di *Borrelia burgdorferi*, l'agente causale della malattia di Lyme, hanno messo in rilievo un titolo sospetto di anticorpi diretti contro *Borrelia burgdorferi* solo in un paziente su cinque (Vollertsen, dati non pubblicati).

Disturbi oculari sono associati anche a infezioni da *Chlamydia*. Un gruppo di ricercatori ha isolato la *Chlamydia psittaci* in un paziente (Darougar *et al.*, 1978) e un altro gruppo ha segnalato prove sierologiche di una recente infezione da *Chlamydia trachomatis* in circa un quarto dei pazienti (Haynes *et al.*, 1980). Altri, in ogni caso, non sono riusciti a raccogliere prove sierologiche o colturali positive, in cui cioè fossero presenti i protozoi (Albrite *et al.*, 1961; Beckman *et al.*, 1970; Boyd, 1957; Edstrom *et al.*, 1976; Vollertsen *et al.*, 1986).

Malgrado sia stata segnalata una varietà di infezioni batteriche nelle persone affette dalla malattia, l'impossibilità di identificare un singolo organismo e il coinvolgimento di molti siti fa pensare che i batteri isolati di volta in volta siano il risultato di complicanze infettive o di contaminazione. Analogamente, malgrado alcuni occasionali reperti istologici di granulomi, i campioni prelevati dai pazienti non sono riusciti a fornire prove convincenti d'infezione da brucella, da micobatteri, o da funghi; ad analoghe conclusioni negative si è giunti a proposito di una possibile associazione tra infezioni virali e sindrome in questione. E neanche l'inoculazione negli animali di tessuti prelevati dai pazienti è riuscita a dimostrarne la contagiosità (Cogan, 1945; Donald *et al.*, 1950; Fair *et al.*, 1960). Conclusioni non diverse suggeriscono il fallimento dei numerosi tentativi terapeutici, con preparati antimicrobici diversi, fatto anche questo che sembra escludere l'ipotesi infettiva.

La presenza occasionale di alterazioni immunologiche non specifiche, per es. fattore reumatoide, diminuiti livelli del complemento, anticorpi antinucleo e crioglobulinemia, nonché i reperti anatomopatologici incoraggiano l'interesse nei confronti dei meccanismi immunitari, ma gli studi in tal senso, sinora, sono stati pochi.



Digitized by Google

L'osservazione mediante immunofluorescenza di un lembo valvolare in un paziente con insufficienza aortica e di un vaso sanguigno periferico in un paziente affetto da vasculite non ha messo in rilievo depositi immuni. Sono stati segnalati anergia passeggera e diminuzione, anch'essa passeggera, dei linfociti T circolanti, in presenza di sindrome di Cogan in fase attiva (Edstrom *et al.*, 1976). Altri AA., però, non hanno riscontrato anergia (Albrite *et al.*, 1961; Fair *et al.*, 1960; Haynes *et al.*, 1980; Quinn *et al.*, 1958; Vollertsen *et al.*, 1986) e in un altro studio è stato osservato un aumento dei linfociti T e B circolanti nei pazienti con tale sindrome (Haynes *et al.*, 1980). La stimolazione della risposta immunologica con cornee allogeniche ha inibito la produzione di linfochine nei pazienti (Quinn *et al.*, 1958). Peraltro, da parte di alcuni ricercatori del National Institute of Health statunitense è stata anche dimostrata in questi pazienti una normale proliferazione linfocitaria indotta da mitogeni, una produzione di immunoglobuline, la soppressione della sintesi d'immunoglobuline da parte dei linfociti T *suppressor* e immunocomplessi circolanti (Haynes *et al.*, 1980). Altri hanno confermato la normale produzione di linfochine (Edstrom *et al.*, 1976). Un rapporto iniziale di diminuita frequenza di HLA-B17 in pazienti con sindrome di Cogan (Kaiser-Kupfer *et al.*, 1978) non è stato poi ulteriormente sostanziato (Char *et al.*, 1975; Char 1978; Cheson *et al.*, 1976; Del Caprio *et al.*, 1976; Haynes *et al.*, 1980; Kundell *et al.*, 1980; Pinals, 1978).

In conclusione, malgrado i reperti clinici e anatomopatologici suggeriscano l'associazione fra infezioni e alterazioni del sistema immunitario e sindrome di Cogan, non abbiamo tuttora dati sierologici o prove microbiologiche di laboratorio che indichino un agente infettivo come causa possibile. Anche i dati a favore di un'alterazione del sistema immunitario appaiono sparsi e contraddittori e, in conclusione, la causa di questa rara malattia rimane tuttora sconosciuta.

**Anatomia patologica**

I reperti anatomopatologici della sindrome di Cogan sono diversi e fanno pensare a una risposta infiammatoria mista diretta contro diversi tessuti, con particolare tendenza a un coinvolgimento vascolare. Per molti organi le informazioni che abbiamo sono basate su singoli casi clinici.

Nell'epitelio corneale si osservano un infiltrato linfocitario e neoformazione di capillari che si estendono alla sclera e all'iride adiacente (Fisher *et al.*, 1961). Le arteriole attorno al nervo ottico sono ialinizzate e la coroide e i corpi ciliari infiltrati da plasmacellule e linfociti.

Un'autopsia ha indicato che il danno otoiatrico era localizzato nell'orecchio interno e sull'VIII nervo cranico (Fisher *et al.*, 1961) ed era costituito da un'infiltrato composto da linfociti e plasmacellule, con ingrossamento delle membrane di rivestimento dell'orecchio interno. Mielinizzazione e atrofia sono state notate nella porzione prossimale dell'VIII nervo cranico. Anche altri AA. hanno riferito analoghi risultati e hanno inoltre rilevato una formazione ossea ectopica all'altezza dell'orecchio interno e dell'VIII nervo cranico (Rarey *et al.*, 1986).

Il reperto istologico vascolare comprende neutrofili, cellule mononucleari, fra cui anche plasmacellule, eosinofili, cellule giganti, granulomi, neovascolarizzazione, trombi e, infine, fibrosi (Fisher *et al.*, 1961; Haynes *et al.*, 1987; Vollertsen *et al.*, 1986). I lembi della valvola aortica possono essere fibrotici (Vollertsen *et al.*, 1986), aneurismatici con endocardio opaco ingrossato e iperemico (Darougar *et al.*, 1978; Eisenstein *et al.*, 1958; Gelfand *et al.*, 1972), o normali (Cheson *et al.*, 1976). La neovascolarizzazione dei foglietti può estendersi all'aorta, e possono essere presenti zone di necrosi e proliferazione della muscolare liscia (Cheson *et al.*, 1976; Eisenstein *et al.*, 1958; Gelfand *et al.*, 1972). L'aorta stessa può presentare una dilatazione generalizzata con riduzione degli osti coronarici (Darougar *et al.*, 1978; Gelfand *et al.*, 1972; Vollertsen *et al.*, 1986), distruzione della membrana elastica, neovascolarizzazione, necrosi e ipertrofia fibrotica (Cheson *et al.*, 1976; Cogan *et al.*, 1964; Darougar *et al.*, 1978; Eisenstein *et al.*, 1958; Gelfand *et al.*, 1972).

Altri vasi presentano vasculite attiva e fibrosi che depongono a favore di una precedente vasculite a carico delle vene e delle arterie piccole e medie. Possono essere presenti anche proliferazione endoteliale, distruzione della membrana elastica interna e fibrosi. Il processo può arrivare ad interessare anche i tessuti perivascolari (Crawford, 1957; Darougar *et al.*, 1978; Del Caprio *et al.*, 1976; Eisenstein *et al.*, 1958; Fisher *et al.*, 1961; Leff *et al.*, 1967; Oliner *et al.*, 1953; Pinals, 1978; Vollertsen *et al.*, 1986). Gli infiltrati sono simili a quelli descritti nella valvola aortica. La vasculite è stata riscontrata anche nella cute, nei reni, nei noduli sottocutanei, nella porzione distale delle arterie coronarie, e nel tessuto muscolare.

Pochi dati istologici dimostrano l'interessamento di altri organi. Nel cuore si rilevano soprattutto cicatrici e infiltrazioni di neutrofili; nel muscolo striato, miosite, necrosi, atrofia e vasculite (Crawford, 1957; Fisher *et al.*, 1961); nei noduli linfatici, iperplasia non specifica; nel fegato, noduli e granulomi, perdita localizzata di epatociti e infiammazione, proliferazione dei dotti biliari e fibrosi, oltre a granulomi e vasculite. L'intestino può presentare infiammazione della lamina propria e una sottomucosa infiltrata con neutrofili, eosinofili, cellule giganti multinucleate e granulomi (Fair *et al.*, 1960). Le alterazioni riportate a livello renale sono cicatrizzazione, vasculite e glomerulite; a livello splenico, necrosi, granulomi e infarti, oltre a vasculite, reperto quest'ultimo rilevato anche nel tessuto testicolare. In un paziente con vasculite dimostrabile in altra zona del corpo sono state rinvenute petecchie ed edema cerebrale (Crawford *et al.*, 1957). L'unica biopsia effettuata sull'articolazione di un paziente con sindrome di Cogan ha rivelato sinovite cronica non specifica, ma l'esame colturale ha mostrato alcuni batteri, facendo sorgere l'ipotesi di un'infezione secondaria dell'articolazione in esame (Pinals, 1978). L'esame del midollo osseo ha mostrato un aumento delle plasmacellule, midollo ipocellulare e diminuita eritropoiesi. A eccezione della vasculite, le biopsie cutanee hanno mostrato per lo più solo alterazioni minori e aspecifiche.

**Sintomatologia**

La sindrome di Cogan colpisce per lo più i primi anni della vita adulta, ma può presentarsi in qualsiasi età. Entrambi i sessi sono colpiti in ugual misura. Nella gran maggioranza dei casi l'insorgenza è caratterizzata da sintomi oculari (fig. 1) e audiovestibolari (in ugual misura) e, raramente, da disturbi non neurologici. La durata media tra l'esordio dei sintomi oculari e quelli uditivi è di circa un mese, anche se sono stati documentati intervalli lunghi fino a 9 anni; entrambi i sintomi sono presenti nei 3/4 dei pazienti a 5 mesi di distanza l'uno dall'altro. Quasi la metà dei pazienti riferisce una precedente infezione delle vie respiratorie superiori (Vollertsen *et al.*, 1986).

Tra i sintomi iniziali più comuni vanno menzionati eritema, fotofobia, dolori, disturbi dell'acuità visiva e oscillopsia. Per una diagnosi definitiva della sindrome di Cogan è comunque indispensabile la presenza della cheratite interstiziale (fig. 2), la cui messa in evidenza spetta ad un oculista esperto dopo ripetuti esami con la lampada a fessura.



Digitized by Google

Fig. 1. Esame del *fundus oculi* in un paziente con sindrome di Cogan. Nella parte inferiore dell'immagine sono visibili alcune vene di calibro aumentato e con decorso tortuoso, associate ad alcune piccole emorragie retiniche.

Tra i sintomi meno frequenti, vi sono congiuntivite, lacrimazione, uveite, episclerite e un danno papillare e maculare. A seconda della diversa risposta alla terapia, l'acuità visiva fluttua nel corso della malattia. La cecità è rara.

I più comuni sintomi audiovestibolari sono diminuita acuità uditiva, vertigini, ronzio, spesso associati a nausea, vomito, atassia e nistagmo. L'esame otoiatrico dev'essere completato con l'esame audiometrico, il test calorico e la elettronistagmografia. In metà dei pazienti diventati sordi, la sordità è sopraggiunta a distanza di circa 3 mesi dallo esordio della malattia e il 90% delle sordità si sono verificate entro 37 mesi dall'esordio (Vollertsen *et al.*, 1986).

Circa la metà dei pazienti presenta sintomi d'interesse generale come febbre, perdita di peso e affaticamento. Possono verificarsi anche mal di testa e dolenzie vaghe della testa e del collo, disturbi muscolari e ossei più spesso artralgie e mialgie, meno di frequente artriti. Si possono verificare anche casi di malessere addominale ed emorragie gastrointestinali. Possono essere presenti anche altri sintomi sistemici, come alterazioni urinarie, insufficienza renale, dolori ai testicoli, alterazioni radiologiche del torace, pleurite, pericardite, noduli, *rash* aspecifici, privi cioè di particolari caratteristiche, ulcere cutanee, linfoadenopatia, splenomegalia, epatomegalia, neuropatie periferiche, meningismo ed altri ancora.

Due delle complicazioni più gravi sono l'insufficienza aortica e la vasculite, che possono presentarsi in associazione. La vasculite si presenta precocemente e nella maggior parte dei casi compare per lo più entro il primo anno di malattia, anche se è stato documentato un intervallo massimo di otto anni fra la comparsa della sindrome e quella di tale complicazione (Vollertsen *et al.*, 1986). Le particolari manifestazioni cliniche dipendono dall'organo colpito. I pazienti con vasculite presentano, più spesso degli altri, febbre, artralgie, mialgie, artrite, epatomegalia, linfoadenopatia, alterazioni all'esame del torace e del sedimento urinario, danno neurologico periferico, noduli, leucocitosi, trombocitosi e infezioni.

Fig. 2. L'esame oftalmologico indica una diffusa opacità della cornea, caratteristica delle cheratiti interstiziali di Cogan.

L'insufficienza aortica può dipendere da valvulite o aortite (Cheson *et al.*, 1976; Darougar *et al.*, 1978; Eisenstein *et al.*, 1958; Gelfand *et al.*, 1972; Pinals, 1978; Haynes *et al.*, 1978; Vollertsen *et al.*, 1986) ed è stata riscontrata da 2 settimane a 12 anni dopo la diagnosi iniziale di sindrome di Cogan (Vollertsen *et al.*, 1986).

Eritrocitosi, VES aumentata, leucocitosi con neutrofilia, anemia e trombocitosi sono tutte alterazioni di laboratorio aspecifiche che spesso accompagnano la sindrome in fase attiva. Come già anticipato, anche alcuni test audiovestibolari possono risultare alterati. Tutti questi risultati di laboratorio sono utili nel corso della malattia per valutarne la risposta alla terapia. Sono stati riscontrati anche ipoalbuminemia, un aumento della proteina C-reattiva e, in un gruppo (Haynes *et al.*, 1980), anche crioglobulinemia. Raramente sono presenti il fattore reumatoide, anticorpi antinucleari e ipocomplementemia. È consigliabile effettuare un esame sierologico per la sifilide nei pazienti in cui sia stata ipotizzata la sindrome. In caso si sospettino insufficienza aortica o vasculite è bene procedere a ecocardiografia, angiografia e biopsie. I pazienti possono presentare anche pleiocitosi o iperproteinorrachia, così come alterazioni elettroencefalografiche.

Perdita di peso, dolenzia addominale, VES alta e anemia sembrano insorgere solo nei casi in cui la malattia ha prodotto esiti gravi come cecità, sordità, insufficienza aortica, vasculite.

**Diagnosi differenziale**

La diagnosi differenziale della sindrome di Cogan può essere affrontata da tre prospettive diverse, partendo cioè da uno dei tre sintomi ricorrenti. La cheratite, per es., può essere secondaria e determinata da cause infettive, vascolari, presumibilmente immunologiche, o da neuropatie; più in particolare possono provocarla infezioni, sarcoidosi, deficit di Vit. A, sindrome di Sjögren, malattie del tessuto connettivo, amiloidosi e ipertiroidismo. La cheratite interstiziale non ulcerativa dello stroma riscontrata nella sindrome di Cogan, può, come si è detto, verificarsi in caso di sifilide congenita, di tubercolosi, di oncocercosi e sarcoidosi. Il secondo punto di vista dal quale si può partire per la diagnosi differenziale è quello di un quadro con sintomi audiovestibolari e coinvolgimento oculare. Ne sono cause potenziali la sifilide congenita, la parotite epidemica e il morbillo. La terza prospettiva diagnostica differenziale è quella delle malattie sistemiche che si associano ai sintomi oculari e audiovestibolari. Fra queste vanno ricordate vasculiti come la classica poliarterite nodosa, la granulomatosi di Wegener, l'arterite a cellule giganti, l'arterite di Takayasu, la sindrome di Behçet e la policondrite recidivante.

Molte altre malattie del tessuto connettivo colpiscono gli occhi, ma senza coinvolgimento audiovestibolare. Comunque, un'otite o una labirintite concomitanti ma non correlate, o un dosaggio troppo elevato di farmaci a base di ac. acetilsalicilico potrebbero far sorgere confusione diagnostica.

Per la diagnosi certa della sindrome, è molto utile ripetere gli esami per accertare una cheratite interstiziale, escludendo però una sifilide congenita.

**Terapia**

La terapia d'elezione della sindrome di Cogan si è basata finora sui cortisonici. L'uso topico di tali farmaci ha pro-





Digitized by Google

dotto in genere un miglioramento della sintomatologia oculare, mentre per i sintomi audiovestibolari e quelli sistemici occorre una terapia generale. Quando i pazienti presentano già sordità, può essere utile tentare tale terapia accompagnandola ad attenta documentazione audiografica. Se la sordità permane invariata dopo varie settimane di trattamento con alte dosi di cortisonici, ciò significa che molto probabilmente non si otterrà alcun giovamento e di conseguenza la terapia andrà riformulata.

Anche la vasculite e l'aortite rispondono alla stessa terapia e sono stati documentati miglioramenti delle lesioni valvolari (Kundell *et al.*, 1980). Gli esiti fatali sono stati registrati prima dell'avvento dei cortisonici.

Aspetta ancora conferma il miglioramento osservato in un caso in cui si era fatto uso di cromoglicato (Carter *et al.*, 1987). Il farmaco è stato usato per la prima volta nel 1987 su di un paziente con disturbi labirintici e cocleari progrediti sino alla sordità totale, e con sintomi oculari costituiti da cheratite, irite, edema corneale e altri ancora. Il paziente riferì che il cromoglicato migliorava di molto la sintomatologia, in particolare riducendo gli episodi di oscuramento della visione.

Si attende anche la conferma degli effetti terapeutici della terapia citotossica e immunosoppressiva, ma sembrerebbe opportuno un tentativo con tale terapia almeno nei casi più resistenti di vasculite (Haynes *et al.*, 1980; Vollertsen *et al.*, 1986).

Anche la soluzione chirurgica può essere adottata, nei casi di insufficienza aortica cronica e in presenza di sintomi causati dalla cicatrizzazione e dalla stenosi dei vasi (Cheson *et al.*, 1976; Gelfand *et al.*, 1972; LaRaja, 1976; Pinals, 1978, Vollertsen *et al.*, 1986).

**Bibliografia**


Albrite J. P., Resnick D. M., *Arch. Otolaryngol.*, 1961, **74**, 501.
Beckman H., Trotsky M. B., *Arch. Otolaryngol.*, 1970, **91**, 179.
Boyd G. G., *Arch. Otolaryngol.*, 1957, **65**, 24.
Carter F., Nabarro J., *Lancet*, 1987, **1**, 858.
Char D. A., Cogan D. G., Sullivan W. R. jr., *Am. J. Ophthalmol.*, 1975, **80**, 491.
Char D. H., *Am. J. Ophthalmol.*, 1978, **86**, 850.
Cheson B. D., Bluming A. C., Alroy J., *Am. J. Med.*, 1976, **60**, 549.
Cheson E. D., Garevoy M. R., *N. Engl. J. Med.*, 1977, **297**, 62.
Cody D. T. R., Williams H. L., *Laryngoscope*, 1960, **70**, 447.
Cogan D. G., *Arch. Ophthalmol.*, 1945, **33**, 144.
Cogan, D. G., Dickersin G. R., *Arch. Ophthalmol.*, 1964, **71**, 172.
Crawford W. J., *Penn. Med. J.*, 1957, **60**, 835.
Darougar S., John A. C., Viswalingam M., Cornell L., Jones B. R., *Br. J. Ophthalmol.*, 1978, **62**, 709.
Del Caprio J., Espinozea L. R., Osterland S. K., *N. Engl. J. Med.*, 1976, **295**, 1262.
Donald R. A., Gardner W. J., *Am. J. Ophthalmol.*, 1950, **33**, 889.
Edstrom S., Vahlne A., *Acta Otolaryngol.*, 1976, **82**, 212.
Eisenstein B., Taubenhaus M., *N. Engl. J. Med.*, 1958, **258**, 1074.
Fair J. R., Levi G. A., *Am. J. Ophthalmol.*, 1960, **49**, 1017.
Fisher E. R., Hellstrom H. R., *Arch. Pathol.*, 1961, **72**, 572.
Gelfand M. L., Kantor T., Gorstein F., *Bull N. Y. Acad. Sci.*, 1972, **48**, 647.
Haynes B. F., Keiser-Kupfer M. I., Mason P., Fauci A. S., *Medicine*, 1980, **59**, 426.
Keiser-Kupfer M. I., Mittal K. K., Del Valle L. A., Haynes B. F., *Am. J. Ophthalmol.*, 1978, **86**, 314.
Kundell S. P., Ochs H. D., *J. Pediatr.*, 1980, **97**, 96.
Kundell S. P., Ochs H. D., *J. Pediatr.*, 1980, **97**, 96.
LaRaja R. D., *Arch. Surg.*, 1976, **111**, 102.
Leff I. L., *N. Y. State J. Med.*, 1967, **67**, 2249.
Oliner L., Taubenhaus M., Shipira T. M., Leshim N., *N. Engl. J. Med.*, 1953, **248**, 1001.
Pinals R. S., *J. Rheumatol.*, 1978, **5**, 294.
Quinn F. B. jr., Falos H. F., *Trans. Am. Acad. Ophthalmol. Otol.*, 1958, **62**, 716.
Rarey K. E., Bicknell J. M., Davis L. E., *Am. J. Otolaryngol.*, 1986, **4**, 387.
Vollertsen R. S., McDonald T. J., Younge B. R. *et al.*, *Mayo Clin. Proc.*, 1986, **61**, 360.


RANDALL S. VOLLERTSEN

## ODONTOIATRIA

F. *odontoiatria*. - I. *odontology; dentistry*. - T. *Odontologie*. - S. *odontoiatría*.

**QUADRO SISTEMATICO**

| ARGOMENTI | RIMANDI |
|---|---|
| Adamantinomi | DENTI (IV, 2157) |
| Ambiente orale | ORALE AMBIENTE* (5553) |
| Anatomia dei denti | DENTI (IV, 2121) |
| Anestesia | DENTI (IV, 2176); ESTRAZIONI DENTARIE* (2927) |
| Articolazione temporo-mandibolare | TEMPORO-MANDIBOLARE ARTICOLAZIONE* |
| Carie dentale | CARIE DENTALE (III, 1066); CARIE DENTALE* (1334) |
| Cisti odontogeniche | DENTI (IV, 2121) |
| Cementi | CEMENTI (III, 1508) |
| Cementi dentali | DENTI (IV, 2136) |
| Combaciamento dei denti | DENTI (IV, 2128); MALOCCLUSIONE (IX, 220); ORTOGNATODONZIA (X, 1987) |
| Denti | DENTI (IV, 2120) e relativo quadro sistematico; DENTI* (2079) |
| Denti decidui | DENTI (IV, 2144); v. anche DENTIZIONE* (2098) |
| Dentifrici | DENTIFRICI (IV, 2189) |
| Dentina | DENTI (IV, 2134) |
| Dentizione | DENTI (IV, 2144); BAMBINO (II, 1859); DENTIZIONE* (2098) |
| Diagnostica per immagini | DENTI* (2079) |
| Disodontiasi | DISODONTIASI (V, 347) |
| Displasia e distrofia dei denti | DENTI (IV, 2150) |
| Embriologia dei denti | DENTI (IV, 2137) |
| Endodonzia | ENDODONZIA (V, 2107) |
| Epulide | DENTI (IV, 2162) |
| Eruzione dei denti | DENTI (IV, 2144) |
| Estrazioni dentarie | ESTRAZIONI DENTARIE* (2926); v. anche DENTI (IV, 2181) |
| Fisiologia | MASTICAZIONE (IX, 446); MASTICAZIONE* (4861) |
| Fluoro | FLUORO (VI, 1778) |
| Foci dentali | DENTALI FOCI (IV, 2116) |
| Gengive | GENGIVE (VII, 6) |
| Gengiviti | GENGIVITI (VII, 6) |
| Igiene orale | ORALE IGIENE* (5550) |
| Implantologia dentale | IMPLANTOLOGIA DENTALE (VII, 1686); IMPLANTOLOGIA DENTALE* (3696) |
| Intarsio | INTARSIO (VII, 2089) |
| Istologia | DENTI (IV, 2133) |
| Liquido gengivale | GENGIVALE LIQUIDO* (3361) |
| Malocclusione | MALOCCLUSIONE (IX, 220); v. anche ORTOGNATODONZIA (X, 1987) |
| Masticazione | MASTICAZIONE* (4861) |
| Materiali dentali | MATERIALI DENTALI* (4880) |
| Odontalgia | ODONTALGIA (X, 1499) |
| Odontoiatria | ODONTOIATRIA* (5516) |
| Odontoma | DENTI (IV, 2160) |
| Ortognatodonzia | ORTOGNATODONZIA (X, 1987) |
| Otturazioni dentali | OTTURAZIONI DENTALI (XI, 433) |
| Paradenzio | PARADENZIO (XI, 945) |
| Parodontale malattia | PARODONTALE MALATTIA (XI, 1164) |
| Parodontiti | PARODONTITI (XI, 1174) |
| Parodontopatie | PARODONTOPATIE (XI, 1177) |
| Pedodonzia | PEDODONZIA* |





Digitized by Google

| ARGOMENTI | RIMANDI |
|---|---|
| Piorrea alveolare | PARODONTALE MALATTIA (XI, 1164); v. anche PARODONTOPATIE (XI, 1177); PIORREA ALVEOLARE (XI, 2152) |
| Placca batterica | PLACCA DENTALE*; PARODONTALE MALATTIA (XI, 1164) |
| Polpa dentale | POLPA DENTALE (XII, 691) |
| Profilassi stomatologica | DENTI (IV, 2187) |
| Protesi dentale | PROTESI DENTALE (XII, 1474); v. anche IMPLANTOLOGIA DENTALE (VII, 1686); IMPLANTOLOGIA DENTALE* (3696) |
| Reimpianti dentali | REIMPIANTI DENTALI (XIII, 287) |
| Semeiotica odontoiatrica | DENTI (IV, 2148), DENTI* (2079) |
| Smalto | DENTI (IV, 2133) |
| Strumentario | DENTI (IV, 2183); ESTRAZIONI DENTARIE* (2929) |
| Tartaro | TARTARO*, PLACCA DENTALE*; PARODONTALE MALATTIA (XI, 1166) |
| Traumi dei denti | DENTI (IV, 2174) |
| Tumori | DENTI (IV, 2156); GENGIVE (VII, 4) |

L'odontoiatria è la scienza che si occupa delle malattie del cavo orale e del dente in particolare. Fino a tempi relativamente recenti era diffusa l'opinione che questa scienza dovesse occuparsi della fisiologia e della patologia del «dente» inteso come unità a se stante, senza valutare l'importanza del contesto ambientale che lo circonda, cioè del cavo orale, che è una entità anatomica formata da più tessuti ed organi.

Ma allo stato delle attuali conoscenze è assolutamente impensabile che il dente venga considerato espressione biologica indipendente, rispetto al corpo umano di cui invece è parte integrante. Conseguentemente oggetto della moderna o. deve essere la salute non solo dentale, ma anche quella della muscolatura del collo e della faccia, dello scheletro del massiccio facciale e degli organi in esso contenuti. Ciò implica la necessità della conoscenza approfondita delle discipline biologiche di base.

L'o. è quindi una scienza complessa e ramificata che assomma numerose discipline, ognuna delle quali possiede la propria specifica competenza. Quelle che costituiscono la base portante dell'o. sono le seguenti.

L'*o. conservatrice* s'interessa della patologia dentale, sia quella dei tessuti duri, comunemente conosciuta come carie dentale (v.; v.*), sia quella dell'organo pulpare. Questa disciplina comprende due branche ben distinte: la *conservativa*, il cui obiettivo consiste nella rimozione dei tessuti danneggiati dalla carie e nella successiva preparazione di una cavità, adatta ad accogliere l'otturazione che ricostruisce la zona dentale dalla quale è stato asportato il tessuto danneggiato, e l'*endodonzia* che si occupa dei problemi patologici della polpa.

La *patologia odontostomatologica* ha il compito di elaborare la diagnostica e di pianificare la terapia delle malformazioni dentali, della patologia della eruzione dei denti, della patologia della mucosa orale e delle ghiandole salivari, della patologia cistica dei mascellari.

La *chirurgia odontostomatologica* si occupa delle manovre chirurgiche che interessano l'area dentale eseguendo tutti gli interventi di chirurgia ambulatoriale.

La *protesi dentaria* è la disciplina che si interessa della riabilitazione occlusale e si ramifica in tre branche di base: la protesi *fissa*, la protesi *rimovibile* e la protesi *totale*; esse si differenziano per le richieste cliniche che sono soddisfatte da mezzi tecnologici specifici.

La *parodontologia* risolve le problematiche cliniche e chirurgiche della malattia parodontale.

L'*ortognatodonzia* affronta le anomalie occlusali sia in fase dinamica di crescita, durante la dentizione mista, sia in dentizione permanente quando la crescita è terminata.

La *pedodonzia* si occupa della patologia dentale nell'infanzia e degli aspetti psicologici connessi.

La ramificazione della scienza odontoiatrica in differenti discipline non solo ha comportato una conoscenza sempre più scientifica e documentata delle principali malattie odontostomatologiche, ma ha posto in notevole risalto l'importanza della prevenzione.

Sono state messe a punto terapie sempre più progredite, che hanno raggiunto a volte una vera e propria perfezione tecnica, come è accaduto in campo protesico ed ortognatodontico, ma non vi è alcun dubbio che se si vuole combattere efficacemente la patologia dentale e ridurne il rischio, bisogna intervenire a monte dell'evento morboso potenziando al massimo gli interventi di prevenzione. Per programmare in maniera mirata un intervento di prevenzione è indispensabile disporre di approfondite conoscenze epidemiologiche.

Innanzi tutto è necessario risalire all'agente causale e ai fattori di rischio della forma morbosa in causa, quali gli elementi che ne favoriscono l'insorgenza, le modalità di diffusione, la sua distribuzione nel mondo, l'età ed il sesso più colpiti, ed infine la sua evoluzione negli anni. Solo avendo queste precise informazioni epidemiologiche è possibile impostare interventi di prevenzione specificatamente orientati.

La prevenzione va distinta in prevenzione primaria, secondaria e terziaria.

La *prevenzione primaria* vuole evitare l'insorgere dello evento morboso operando a monte; è pertanto la forma più vera di prevenzione, in aderenza al significato etimologico della parola stessa. Essa si attua mediante intervento sull'individuo o sull'ambiente, e, in campo odontostomatologico, le sue espressioni più importanti attengono ai temi dell'igiene orale, della fluoroprofilassi e dell'igiene alimentare.

L'*igiene orale* (v. ORALE IGIENE*) mira al controllo della placca batterica, alla rimozione di detriti alimentari attraverso lo spazzolamento dei denti, al massaggio e alla stimolazione gengivale. Essa si propone come l'intervento di prevenzione più efficace della malattia parodontale e come uno degli interventi più validi nel contrastare l'insorgenza della carie dentale. I mezzi che vengono utilizzati, perché la pratica dell'igiene orale adempia correttamente ai suoi compiti, sono meccanici e chimici: spazzolini, dentifrici, collutori. Va poi ricordato che esiste una naturale igiene orale esplicata dall'azione antibatterica della saliva e dai movimenti mastieatori.

La *fluoroprofilassi* (v. CARIE DENTALE*) è senza dubbio l'intervento di profilassi anticarie più seguito e viene attuata, con diverse modalità, in campo mondiale da oltre 250 milioni di persone. Si basa sulla proprietà che ha il fluoro di trasformare l'idrossiapatite contenuta nello smalto del dente in fluoroapatite, rendendo in tal modo i cristalli dello smalto meno solubili all'azione degli acidi, e su quella di inibire la glicolisi batterica anaerobica, mediante il blocco dell'enolasi e della fosfogliceromutasi, con conseguente riduzione del processo fermentativo degli zuccheri.

Le possibilità di realizzazione della fluoroprofilassi sono numerose. Due sono le più attuate: la fluorazione delle acque e la somministrazione di compresse fluorate.





Digitized by Google

L'*alimentazione* riveste un ruolo basilare nel campo della profilassi odontoiatrica, sia per la natura degli alimenti, da cui deriva la modalità della masticazione (v.*), sia per i riflessi che essa determina sulla natura e quantità della saliva.

È ben nota la cariogenicità degli alimenti ricchi di idrati di carbonio e in particolare di saccaroso, nonché l'importanza della quantità di zuccheri ingeriti, la frequenza con cui vengono assunti, il tipo di alimenti che li contengono.

Assai dannosa l'abitudine di consumare, spesso in quantità notevole, bevande dolci, di masticare gomme dolcificate con saccaroso, di consumare alimenti nell'intervallo tra i pasti principali. Quando l'ingestione di saccaroso è molto abbondante nel periodo neonatale e nella prima infanzia il danno aumenta. Si viene infatti a determinare il precoce insediamento di una flora acidogena specifica i cui prodotti metabolici acidi interferiscono con il processo di maturazione posteruttivo dello smalto.

Sono considerati invece alimenti prevalentemente cariostatici quelli ricchi di sostanze proteiche e, in misura minore, di grassi.

L'alimentazione ricca di latte, di uova, carne e pesce è da considerarsi positiva per la salute dentale, anche per la ricca presenza di sali minerali, in particolare di calcio, fosforo e ferro.

La *prevenzione secondaria* consiste nella individuazione e nella correzione di condizioni di rischio o di stati patologici in fase preclinica. Questo tipo di prevenzione vede, come strumenti di base, la visita periodica odontoiatrica ed il controllo mirato di collettività critiche, *in primis* quelle di scolari.

La visita periodica odontoiatrica dovrebbe avere cadenza semestrale, in quanto l'intercettamento della patologia dentale è tanto più efficace quanto più è precoce. Il controllo sistematico di collettività scolari ha pure una sua validità, solo quando, una volta evidenziati i casi a rischio, vengono forniti in maniera adeguata e tempestiva i relativi sussidi terapeutici.

La *prevenzione terziaria* si attua quando ormai il danno si è verificato (di qui la perplessità di usare in questo caso il termine prevenzione) e si esprime attraverso interventi terapeutici il cui scopo è quello di evitare il peggioramento della situazione sia dentale che occlusale.

Da questo rapido *excursus* sulla prevenzione emerge che solo pochi interventi preventivi sono di tipo impositivo, esempio tipico la fluorazione delle acque; la grande maggioranza è di tipo educativo e di conseguenza la loro realizzazione è possibile solo se si può contare sull'opera di educazione sanitaria dell'odontoiatra e del personale ausiliario odontoiatrico e sulla partecipazione consapevole della popolazione.

Questo comporta un profondo cambiamento nella formazione universitaria dell'odontoiatra, che dovrà essere un clinico, non solo d'attesa, ma anche d'iniziativa e di intervento che opera anche in una collettività di soggetti sani attuando i suoi interventi di tipo clinico-preventivo ed educativo. Da quanto è stato finora esposto emerge chiara la realtà che la domanda terapeutica odontoiatrica è in continuo sviluppo, sia quantitativamente che qualitativamente, e di conseguenza in campo nazionale si è sentita la necessità di istituire un corso di laurea specifico che assommasse le nuove problematiche e creasse una nuova figura medica nel campo.

Il *Corso di Laurea in Odontoiatria e Protesi dentaria*, istituito nel febbraio del 1980, attraverso il rinnovamento didattico e culturale che lo caratterizza garantisce la formazione di laureati professionalmente qualificati.

La durata del Corso è di 5 anni, suddivisi in un biennio ed un triennio. Il numero degli studenti ammessi ad ogni corso è proporzionato alle strutture didattiche e cliniche disponibili nelle rispettive sedi universitarie. L'ammissione avviene secondo un ordine di graduatoria stabilito in base ad un punteggio così ripartito: 70 centesimi, riservati all'esito di un test, a scelta multipla, vertente su nozioni generali relative ad argomenti di chimica, fisica, matematica e biologia generale, e 30 centesimi riservati al punteggio conseguito nell'esame finale di diploma di scuola secondaria superiore.

L'ordinamento didattico del corso di laurea contempla 27 insegnamenti fondamentali e 6 complementari. Tali insegnamenti, distinti in discipline medico-biologiche, mediche generali e discipline specificatamente odontostomatologiche, assicurano un'adeguata conoscenza delle scienze sulle quali si fonda l'o. Il piano didattico del corso prevede, oltre all'obbligo di frequenza, un tirocinio pratico per ogni disciplina clinica. Il corso di laurea in o., attraverso questa specifica e più celere qualificazione professionale dello studente, consentirà di disporre di un maggior numero di laureati per cui potranno essere fronteggiate e sanate situazioni anomale in campo professionale e nel contempo verranno soddisfatte le crescenti richieste di assistenza da parte della popolazione.

**Bibliografia**


Farmer E. D. *et al.*, *Possibilità attuali e prospettive future comunitarie dell'insegnamento e dell'aggiornamento in Odontoiatria*, 1979, R.I.S. n. 6.

Capozzi L., *Fed. Med.*, 1982, **XXXV**, 10.

Capozzi L. *et al.*, *Patologia speciale odontostomatologica*, 1987, USES, Firenze.

Silverstone L. M., *Odontoiatria preventiva*, 1981, IDEM.


GIOVANNA GATTI COLANGELO

**OLIO TOSSICO**: v. COLZA, OLIO DI* (col. 1815); v. anche SHULMAN, MALATTIA DI*.

## OMEPRAZOLO

F. *omeprazole*. - I. *omeprazole*. - T. *Omeprazol*. - S. *omeprazolo*.

**Farmacologia**

L'omeprazolo (Losec®; Mepral®; Omeprazen®) è il capostipite di una nuova classe di farmaci antisecretivi, i cosiddetti derivati benzimidazolici (fig. 1). L'o. è un profarmaco che, assorbito in forma inattiva, penetra come base debole nella cellula parietale e quindi nello spazio acido del canalicolo, dove viene protonato e trasformato nella sua forma attiva, sulfenamidica, in grado di interferire selettivamente con l'enzima $H^+$–$K^+$ ATPasi, o pompa protonica, che rappresenta l'anello terminale dei processi secretori acidi della cellula parietale.

L'inibizione oltre che selettiva è irreversibile. La capacità inibitoria della risposta secretoria acida a tutti gli sti-

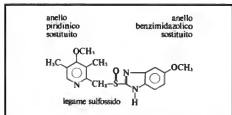



Fig. 1. Formula di struttura dell'o. Sono evidenziati i tre costituenti biologicamente attivi.





Digitized by Google

moli attualmente noti (acetilcolina, istamina, gastrina, calcio) si mantiene infatti fino a quando non venga sintetizzato nuovo enzima $H^+-K^+$ ATPasi.

Somministrato a volontari sani o a pazienti affetti da ulcera peptica in singola dose, variabile da 20 a 80 mg, l'o. inibisce, con modalità dose-dipendenti, fino al 90% l'*output* acido basale e stimolato. La somministrazione ripetuta porta a effetti cumulativi, in quanto la potenza e la durata dell'inibizione aumentano dopo le prime somministrazioni fino a stabilizzarsi entro 3-5 giorni dalla prima assunzione. La pHmetria intragastrica delle 24 ore ha documentato che l'o. è in grado di inibire la concentrazione idrogenionica in misura variabile dal 46 al 92% rispettivamente dopo una singola dose di 40 mg e dopo 7 giorni di trattamento.

L'o. si è anche rivelato utile nel trattamento della infezione da *Helicobacter pylori* di cui sono noti il ruolo causale della gastrite antrale B e quello di probabile concausa nella genesi dell'ulcera duodenale. Si è ipotizzato sia un effetto antibatterico diretto del farmaco (o di un suo metabolita) sia un'azione indiretta di potenziamento (per aumento del pH intragastrico) dell'attività degli antibiotici specifici (amoxicillina e metronidazolo in particolare). Le segnalazioni in merito sono tuttavia contraddittorie e meritevoli di ulteriori controlli.

**Applicazioni cliniche**

Questi presupposti farmacologici sono stati ampiamente confermati nella pratica clinica che, attualmente, è sostanzialmente limitata alla terapia a breve termine dell'ulcera peptica e dell'esofagite ed al controllo anche a lungo termine della ipersecrezione acida della sindrome di Zollinger-Ellison.

Per quanto concerne l'*ulcera duodenale*, in sperimentazioni cliniche non controllate, il farmaco a dosi di 30-40 mg al giorno si è dimostrato in grado di indurre la cicatrizzazione dell'ulcera nel 96-100% dei casi dopo 4 settimane di terapia. In particolare, sulla base dei risultati ottenuti in studi multicentrici, con dosi variabili da 10 a 60 mg, non si è osservato alcun reale vantaggio dall'impiego routinario di dosi superiori a 20 mg al giorno (al mattino), che rappresenta pertanto la dose attualmente consigliata nella terapia a breve termine dell'ulcera peptica non complicata. Già con questa dose, infatti, si è potuto documentare una cicatrizzazione del 90% dopo 4 settimane. Il reale vantaggio terapeutico di schemi con 40-60 mg al giorno sembra riferirsi quindi non tanto ad un ulteriore guadagno in termini di cicatrizzazione quanto ad una maggior rapidità di guarigione (100% già dopo 15 giorni) e di sollievo della sintomatologia soggettiva.

Nei confronti degli $H_2$-antagonisti, l'o. alla dose di 20-40 mg al giorno, si è dimostrato in grado di cicatrizzare l'ulcera duodenale nel 42-83% dei casi dopo 2 settimane e nell'82-100% dei casi dopo 4 settimane. I corrispondenti valori con cimetidina e ranitidina sono risultati variare dal 34 al 59% dopo 2 settimane e dal 63 al 92% dopo 1 mese. Una valutazione complessiva dei risultati disponibili sembra quindi evidenziare, a favore dell'o., un guadagno terapeutico medio, come capacità cicatrizzante ed analgesica, del 18 e 13% dopo 2 e 4 settimane rispettivamente.

Un particolare sottogruppo di pazienti, che sembra giovarsi in modo particolare della terapia con o., è costituito dai cosiddetti pazienti ulcerosi duodenali resistenti ad un trattamento convenzionale con $H_2$-antagonisti o con farmaci cito-sitoprotettivi (bismuto colloidale subcitrato e sucralfato). Recenti studi controllati in pazienti non guariti con cimetidina 0,8-1,0 g/*die* o ranitidina 300-600 mg/*die*, hanno evidenziato che l'o., alla dose di 40 mg al mattino, è in grado di indurre la guarigione dell'ulcera in una percentuale di casi variabile dall'82 al 100% già dopo 4 settimane di trattamento.

L'o. si è dimostrato attivo anche nella terapia a breve termine dell'*ulcera gastrica*. Sperimentazioni cliniche controllate nei confronti degli $H_2$-antagonisti hanno evidenziato che il farmaco (20-40 mg al mattino per 4 settimane) è in grado di guarire l'ulcera nel 73-93% dei casi, in confronto al 55-58% con cimetidina ed al 53-87% con ranitidina. Diversamente dall'ulcera duodenale, solo la dose di 40 mg si è dimostrata costantemente più efficace dei farmaci di confronto.

Per quanto concerne la profilassi della recidiva in pazienti con ulcera duodenale sono disponibili risultati preliminari di uno studio multicentrico controllato che ha confrontato l'efficacia profilattica di o. 10 mg/*die vs.* o. 20 mg somministrato negli ultimi 3 giorni della settimana (cosiddetta *weekend therapy*). Dopo 6 mesi le percentuali di recidiva risultano essere rispettivamente del 19 e 31%. Studi non controllati condotti con o. 20-60 mg/*die*, per più di 3 anni, in pazienti resistenti agli antisecretivi tradizionali, hanno confermato l'efficacia clinica e la tollerabilità del farmaco.

In effetti l'aumento della gastrina secondario alla inibizione della secrezione acida era limitato ai primi 6 mesi di trattamento, con successivo raggiungimento di un *plateau* e in seguito tendenza alla riduzione.

Nel trattamento dell'*esofagite peptica* l'esperienza è meno ampia, ma affatto incoraggiante non soltanto nei confronti del *placebo*, ma anche di altri antisecretivi. Alla dose di 20-60 mg al giorno, l'o. si è dimostrato superiore alla cimetidina, 1600 mg/*die* ed alla ranitidina, 300-600 mg/*die*, per quanto concerne non solo la guarigione delle lesioni endoscopiche (57-74% dopo 4 settimane e 78-87% dopo 8 settimane), ma anche il controllo della sintomatologia ad esse correlata. Il guadagno terapeutico dell'inibitore della pompa protonica, nei confronti degli antisecretivi tradizionali, è risultato variare dal 35 al 40% in particolare nei pazienti con esofagite severa (II-IV grado). Alla dose di 40 mg/*die*, l'o. si è rivelato efficace nell'indurre la remissione dei sintomi e la guarigione endoscopica in oltre il 90% dei pazienti resistenti anche a 3 mesi di alte dosi di $H_2$-antagonisti.

L'esperienza nella profilassi della recidiva dell'esofagite è ancora scarsa. In studi preliminari, meritevoli di ulteriori controlli, la somministrazione di o. (20 mg/*die*) ha ridotto il rischio di recidiva dall'80-90% (con *placebo*) al 19% dopo 6 mesi di terapia.

Altrettanto preliminari sono i risultati che assegnano all'o. (20-40 mg) una significativa superiorità nella prevenzione, a breve termine, delle lesioni gastriche indotte da Aspirina®.

La straordinaria capacità antisecretiva dell'o. ne ha giustificato, infine, l'impiego quale terapia medica d'elezione nella *sindrome di Zollinger-Ellison* in alternativa agli $H_2$-antagonisti associati o no a pirenzepina. A dosi variabili da 60 a 160 mg/*die* il farmaco si è dimostrato in grado di mantenere i valori di secrezione acida basale inferiori a 10 mmol HCl/h (valore soglia per il rischio di recidiva) e di controllare efficacemente le condizioni cliniche anche per periodi prolungati di tempo, superiori a 60 mesi.

**Effetti collaterali**

L'o. è un farmaco ben tollerato. Allo stato attuale non si sono evidenziati infatti effetti collaterali significativi o più frequenti rispetto ai controlli (*placebo* o $H_2$-antagonisti). Fra i disturbi possibilmente attribuibili all'o. sono stati se-




Digitized by Google

gnalati *rash* cutanei transitori, nausea, vomito, diarrea, vertigini, cefalea, astenia e dolori addominali. Meritevoli di ulteriori accertamenti sono due recenti segnalazioni circa la possibile correlazione tra assunzione di o. e comparsa di ginecomastia e di anemia emolitica con test di Coombs diretto positivo. Il metabolismo ossidativo di alcuni farmaci (diazepam, fenitoina, idrossicumarina) viene ridotto in misura dose-dipendente dall'o., probabilmente per inibizione del citocromo p-450 epatocitario.

L'aspetto principale della terapia con o. riguarda tuttavia le possibili conseguenze di una prolungata ipo-acloridria gastrica: ipergastrinemia e possibile sviluppo di batteri nitroriduttori.

Indagini tossicologiche nei ratti hanno dimostrato che l'inibizione acida secondaria alla somministrazione di alte dosi di o. per lunghi periodi di tempo può causare una iperplasia delle cellule enterocromaffini gastriche con comparsa, in casi isolati, di carcinoidi. Tuttavia il significato clinico di questi dati non è affatto chiaro in considerazione anche delle profonde differenze fra il sistema endocrino gastrico del ratto e quello dell'uomo. Certamente l'iperplasia delle cellule enterocromaffini non è indotta dall'o., ma dalla ipergastrinemia di rimbalzo come è stato anche dimostrato nei pazienti con anemia perniciosa, con sindrome di Zollinger-Ellison e, in condizioni sperimentali, con la somministrazione prolungata, nei ratti, di $H_2$-antagonisti (ranitidina) a dosi tali da indurre un'inibizione della secrezione acida sovrapponibile a quella osservata con o.

In ogni caso, nell'uomo, la somministrazione di o. in dosaggi farmacologici, determina una ipergastrinemia che di regola rimane al di sotto dei livelli necessari ad attivare i meccanismi proliferativi delle cellule endocrine ossintiche. Precisi studi istomorfologici hanno dimostrato che la moderata ipergastrinemia osservata in corso di terapia prolungata con o. può determinare, in alcuni pazienti, un aumento della densità, ma non una proliferazione focale, delle cellule argirofile ossintiche.

Si è osservato infine che anche un'importante e prolungata ipergastrinemia non presenta di per sè un potenziale carcinogenetico. Tale effetto potrebbe manifestarsi solo nel caso che le cellule endocrine siano state alterate da altri fattori, quali si possono riscontrare in una sindrome neoplastica endocrina multipla o nella gastrite cronica atrofica di tipo A. Ne è conferma il fatto che le scarse segnalazioni di carcinoide gastrico nell'uomo erano associate, come si è detto, alla ben più severa ipergastrinemia da anemia perniciosa o da sindrome di Zollinger-Ellison associata a neoplasia endocrina multipla (MEN tipo I).

In conclusione l'o. rappresenta, allo stato attuale delle conoscenze, un progresso nella terapia della malattia ulcerosa. In questo campo, se il suo impiego come farmaco di prima scelta è ancora *sub judice* (non è attualmente ammesso dalla FDA nel trattamento dell'ulcera gastrica e duodenale acuta), esso trova piena indicazione nella terapia a breve termine dell'ulcera peptica e dell'esofagite nei pazienti resistenti anche a dosi elevate di antisecretivi tradizionali.

Rappresenta inoltre l'opzione terapeutica di scelta nella terapia medica della sindrome di Zollinger-Ellison.

Per quanto concerne la terapia di mantenimento le esperienze relative all'ulcera peptica sono molto preliminari, mentre importanti indicazioni derivano dalle esperienze nella profilassi della recidiva dell'esofagite refrattaria agli $H_2$-antagonisti. Il problema della tollerabilità a lungo termine, nonostante le segnalazioni positive in tal senso, rimane ancora aperto ed è suscettibile di discussione soprattutto alla luce di una accurata valutazione del costo-beneficio (medico ed economico) in rapporto alle alternative (mediche o chirurgiche) disponibili.

**Bibliografia**


Arnold R., Koop H., *Digestion*, 1989, **44** (Suppl. 1), 77-86.
Bianchi Porro G., Bolling E., Barbara L. *et al.*, *Gastroenterology*, 1990, **98**, A20.
Bianchi Porro G., Parente F., *Scand. J. Gastroenterol.*, 1989, **24** (Suppl. 166), 48-53.
Brunner G., Creutzfeldt W., Harke U., Lamberts R., *Digestion*, 1988, **39**, 80-90.
Clissold S. P., Campoli Richards D. M., *Drugs*, 1986, **32**, 15-47.
Isal J. P., *Gastroenterol. Clin. Biol.*, 1987, **11**, 768-780.
Jansen J. B. M. J., Lamers C. B., *Digestion*, 1989, **44** (Suppl. 1), 40-46.
Maton P. N., *N. Engl. J. Med.*, 1991, **324**, 965-975.
Maton P. N., Vinayek R., Frucht H. *et al.*, *Gastroenterology*, 1989, **97**, 827-836.
McTavish D., Buckley M. M.-T., Heel R. C., *Drugs*, 1991, **42**, 138-170.
Sachs G., Wallmark B., *Scand. J. Gastroenterol.*, 1989, **24** (Suppl. 166), 3-11.


GABRIELE BIANCHI PORRO E MARCO LAZZARONI

## OMOSESSUALITÀ [v. vol. X, col. 1699)

**Patologia infettiva nell'omosessuale**

La condizione di omosessualità di per sé non può essere considerata come predisponente all'acquisizione di infezioni, anche se, determinate abitudini di vita caratteristiche degli omosessuali maschi, quali l'elevata promiscuità sessuale e l'estrema facilità al rapporto sessuale occasionale, rendono in questa categoria di persone sicuramente più elevata la frequenza di infezioni sessualmente trasmesse, e in particolare di quelle classicamente definite come «veneree» (v. anche: VENEREE MALATTIE). Inoltre alcune pratiche sessuali, più frequentemente attuate dagli omosessuali maschi, facilitano il contatto diretto o indiretto tra le mucose orali, genitali e rettali, e rendono possibile la contaminazione di queste sedi con microrganismi presenti a livello genitale o nelle feci. Questo meccanismo di trasmissione è considerato alla base di alcuni quadri clinici di tipo enterico, proctocolitico e proctitico ad etiologia infettiva, di comune riscontro in omosessuali maschi; affezioni di questo tipo sono state raggruppate in un unico capitolo denominato con la dizione anglosassone di *Gay bowel syndrome* (v.*) e trattato come voce a parte in questo aggiornamento.

Per quanto riguarda il più frequente riscontro di quadri di immunodeficienza acquisita, linfoadenopatia generalizzata e di sarcoma di Kaposi, segnalato circa un decennio fa in popolazioni di omosessuali maschi, va considerato che tali quadri sono ormai considerati nell'ambito della sindrome da immunodeficienza acquisita (v.; v.*), infezione soprattutto a trasmissione sessuale per la cui acquisizione gli omosessuali maschi sono considerati a maggior rischio.

**Bibliografia**


Masur H., *Infection in homosexual men*, in Mandell G. L, Douglas R. G., Bennett J. E., *Principles and Practice of Infectious Disease*, 1990, 3 ed., Churchill Livingstone, New York, 2280-2284.


REO.

## ONCOCERCOSI [v. vol. X, col. 1708]

**Terapia**

L'oncocercosi rappresenta ancora oggi uno dei più gravi problemi di salute per le popolazioni che risiedono nelle diverse aree endemiche; in particolare, nelle regioni dell'Africa occidentale comprese tra il 15° parallelo nord ed il 13° parallelo sud, si stima che attualmente oltre 340.000 pazienti siano affetti da cecità (in alcuni distretti sino al 40% della popolazione) e che altrettanti soffrano di gravi lesioni oculari a causa dell'azione patogena esercitata dalle microfilarie di *Onchocerca volvulus*.





Digitized by Google

Il fatto che la parassitosi manifesti tutta la sua gravità soprattutto in soggetti maschi in età lavorativa e la consapevolezza che essa, da sempre, abbia rappresentato uno dei maggiori ostacoli allo sviluppo socioeconomico di queste regioni, hanno, di fatto, indotto l'Organizzazione Mondiale della Sanità a patrocinare dal 1974 diverse campagne di intervento su vasta scala per un possibile controllo di questa filariasi. In una prima fase, in assenza di farmaci idonei per un trattamento di massa delle popolazioni, le energie sono state impiegate essenzialmente nella lotta chimica e biologica contro il vettore trasmettitore della malattia (nebulizzazioni aeree periodiche di oltre 1300 $km^2$ di territorio con Temephos®, larvicida altamente biodegradabile, e con *Bacillus thuringiensis*), mentre, in tempi più recenti (dal 1987), la scoperta dell'azione microfilaricida dell'ivermectina (Mectizan®) ha permesso di associare al precedente tipo di intervento il trattamento chemioterapico della popolazione. Questa duplice strategia operativa ha avuto come risultato incoraggiante quello di determinare una drastica caduta sia della prevalenza (dal 25-40% a meno del 5%) che dell'intensità della malattia nelle aree d'intervento, facendo ipotizzare per il futuro anche una sua possibile eradicazione.

L'*ivermectina* (v.*), farmaco già da tempo noto per la sua efficace azione contro molti parassiti, soprattutto nematodi ed artropodi (insetti, pulci, acari, etc.) agisce dopo un'unica somministrazione e a bassi dosaggi (0,15-0,20 mg/kg); è relativamente ben tollerata dai pazienti e svolge un'azione assai prolungata nel tempo. Queste peculiari caratteristiche la rendono attualmente farmaco d'elezione per l'o., utilizzabile, come si è visto e differentemente dalla dietilcarbamazina e dalla suramina, nella chemioprofilassi di massa.

Il trattamento secondo la dose indicata, se da un lato non sembra danneggiare i vermi adulti presenti nei noduli sottocutanei (oncocercomi) e le larve infestanti ($L_3$ e $L_4$), dall'altro consente la completa, o quasi completa, scomparsa delle microfilarie dal tessuto sottocutaneo già dopo le prime 48-72 h e l'elevata diminuzione di quelle localizzate nelle regioni oculari in poche settimane (sino al 10%), determinando un immediato miglioramento delle condizioni generali dei malati.

Il meccanismo d'azione è quello di determinare la paralisi delle larve, che, solo in un momento successivo vanno incontro ad una lenta degenerazione e distruzione «naturale», evitando in tal modo di scatenare quelle gravi reazioni allergiche collaterali, pressoché costanti nel trattamento dei pazienti con dietilcarbamazina. L'assenza o il basso numero delle microfilarie nei tessuti persiste per diversi mesi (6-12) in quanto l'ivermectina probabilmente riesce ad interferire anche sull'attività motoria delle forme presenti nelle femmine gravide, che, sebbene vitali, non sono in grado di partorire nuovi individui, forse anche a causa del blocco della muscolatura dell'utero e della vulva. Ciò comporta la degenerazione e il riassorbimento *in situ* delle $L_1$ già mature oltre che il temporaneo arresto di nuovi processi di embriogenesi.

In questo quadro è facile comprendere come il farmaco sia in grado di ridurre la possibilità di trasmissione del parassita e come sia consigliabile, data la longevità dei vermi adulti e la possibilità di nuove infestazioni, la ripetizione del trattamento ogni 6-12 mesi.

L'ivermectina in genere è ben tollerata, tuttavia in alcuni casi possono insorgere blandi o moderati effetti collaterali tra cui prurito più o meno intenso, eruzioni cutanee (causate dalla morte delle microfilarie), mal di testa, ingrossamento dei linfonodi, debolezza generalizzata. I sintomi peraltro possono essere alleviati somministrando dosi adeguate di Aspirina® o di farmaci antistaminici. Talora, in soggetti più sensibili, si può manifestare un quadro anche serio di ipotensione posturale, probabilmente legata all'attività GABA-agonista del farmaco e alla sua elevata affinità per i GABA-recettori presenti nelle cellule nervose. Anche nei pazienti con gravi lesioni oculari le reazioni sono in genere di lieve entità e diminuiscono gradualmente in seguito al completo riassorbimento delle microfilarie.

Avendo mostrato effetti teratogeni, l'ivermectina non va somministrata in gravidanza. È opportuno inoltre ricordare che nel trattamento di massa vengono sistematicamente escluse donne in fase di allattamento, bimbi al di sotto dei 5 anni e pazienti affetti da gravi malattie cardiache, del fegato, dei reni e del S.N.C.

**Bibliografia**

Bennett J. L., Williams J. F., Dave V., *Parasitol. Today*, 1988, **4**, 226.
Duke B. O. L., *Parasitol. Today*, 1990, **6**, 82.
Ottesen E. A., Vijayasekaran V., Kumaraswami V. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1990, **322** (16), 1113.
World Health Organization, *WHO Tech. Rep. Ser.*, 1987, n. 752.

GIANFRANCO BORTOLETTI

## ONCOFETALI ANTIGENI [v. vol. X, col. 1713]

SOMMARIO



### Introduzione

I dati ottenuti in questi ultimi anni dalla ricerca sperimentale e clinica riguardanti la struttura molecolare, la funzione biologico/clinica e la distribuzione delle molecole definibili come *antigeni oncofetali* (v. ONCOFETALI ANTIGENI, X, 1713) hanno determinato il progressivo abbandono di tale terminologia, preferendole la definizione, più generale ma più corretta, di *marcatori tumorali*.

Si definiscono marcatori tutte quelle sostanze presenti nelle e/o prodotte dalle neoplasie che possono costituire un segnale qualitativamente e quantitativamente rilevabile della presenza e della crescita di una neoplasia (tab. 1).

A seconda della localizzazione cellulare, i marcatori possono essere: nucleari, citoplasmatici, di membrana e circolanti. Oggi sono disponibili tecniche sia immunoistochimiche, che si avvalgono dell'uso di anticorpi monoclonali, sia molecolari (uso di sonde capaci di ibridare con DNA di geni specifici) in grado di identificare geni e loro prodotti normali o mutati anche in singole cellule tumorali. Tuttavia non esistono ancora dati certi sulla capacità prognostica della presenza e/o perdita di certi geni (ad es., oncogèni, antioncogèni) e/o loro prodotti in cellule neoplastiche.

Quindi sono soprattutto i marcatori circolanti ad aver attirato l'attenzione dei ricercatori, essendo quelli più facilmente utilizzabili nella pratica clinica. A tutt'oggi non è possibile indicare alcun marcatore specifico per un determinato tipo di neoplasia ed esclusivamente ritrovabile in associazione ad uno stato neoplastico e non in condizioni di assoluta normalità. Esiste piuttosto una proporzionalità di tipo diretto fra quantità di marcatore dimostrabile ed estensione della neoplasia.

Per questi motivi l'utilizzo clinico dei marcatori si avvale di una misurazione unicamente di tipo quantitativo. Allo stato attuale sono disponibili gli Standard Internazionali di



Digitized by Google

**TAB. I. DENOMINAZIONE ED UTILIZZO DIAGNOSTICO-TERAPEUTICO DEI MARCATORI TUMORALI**

| Marcatore | Sede della neoplasia | Diagnosi | Monitoraggio |
|---|---|---|---|
| AFP | fegato | + | + |
| | ovaio (carcinoma seno endodermico, carcinoma embrionale) | + | + |
| | testicolo (non seminoma) | * | * |
| BOMBESINA | polmone | * | * |
| CA 125 | ovaio (adenocarcinoma mucinoso) | + | + |
| | tube ed endometrio | * | * |
| CA 195 | stomaco | * | * |
| | colon-retto | * | * |
| | vie biliari | * | * |
| | pancreas | * | * |
| CA 19.9 | stomaco | — | + |
| | colon-retto | — | + |
| | vie biliari | — | + |
| | pancreas | + | + |
| | ovaio (adenocarcinoma mucinoso) | — | + |
| CA 15.3 | mammella | — | + |
| | ovaio | * | * |
| CA 50 | colon-retto | * | * |
| | vie biliari | — | + |
| | pancreas | + | + |
| | rene | — | + |
| | vescica | — | + |
| CEA | tiroide (carcinoma midollare) | — | + |
| | esofago (adenocarcinoma) | — | + |
| | stomaco | — | + |
| | colon-retto | — | + |
| | vie biliari | — | + |
| | pancreas | — | + |
| | polmone | — | + |
| | mammella | — | + |
| | ovaio (adenocarcinoma mucinoso) | — | + |
| | utero (adenocarcinoma) | — | + |
| | fegato (metastasi) | + | + |
| CALCITONINA | tiroide (carcinoma midollare) | — | + |
| | polmone | * | * |
| DU-PAN$_2$ | pancreas | + | + |
| FERRITINA | esofago | * | * |
| | fegato | — | + |
| | S.N.C. | * | * |
| | polmone | * | * |
| | mammella | * | * |
| | morbo di Hodgkin | * | * |
| HCG/β-HCG | ovaio (coriocarcinoma, carcinoma embrionale) | + | + |
| | utero (mola vescicolare) | + | + |
| | testicolo (non seminoma) | + | + |
| IAP | ovaio | * | * |
| LDH | testicolo (carcinoma germinale) | * | * |
| | S.N.C. (neuroblastoma) | * | * |
| | (leucemia linfatica acuta) | * | * |
| | (linfoma non Hodgkin) | * | * |
| MCA | mammella | * | * |
| | ovaio (adenocarcinoma mucinoso) | * | * |
| | rene | * | * |
| NSE | tiroide (carcinoma midollare) | * | * |
| | S.N.C. (neuroblastoma) | + | + |
| | polmone (microcitoma) | + | + |
| OSTEOCALCINA | ossa (metastasi) | * | * |
| PAP | prostata | — | + |
| PLAP | testicolo | * | * |
| POA | pancreas | * | * |
| PSA | prostata | + | + |
| TAF | capo-collo | * | * |
| | esofago | * | * |
| | utero (carcinoma spinocellulare) | * | * |

*segue*

*segue* **TAB. 1**

| Marcatore | Sede della neoplasia | Diagnosi | Monitoraggio |
|---|---|---|---|
| TAG 72 | stomaco | * | * |
| | ovaio | * | * |
| | utero | * | * |
| | colon-retto | * | * |
| TK | S.N.C. | * | * |
| TATI | esofago | * | * |
| | pancreas | * | * |
| | ovaio (adenocarcinoma mucinoso) | * | * |
| TG | tiroide (carcinoma differenziato) | * | * |
| TPA | capo-collo | — | + |
| | tiroide (carcinoma indifferenziato) | — | + |
| | esofago | — | + |
| | colon-retto | — | + |
| | polmone | — | + |
| | mammella | — | + |
| | vescica | — | + |

+ marcatore di indiscussa importanza clinica; — marcatore riconosciuto scarsamente utile; * marcatore di potenziale utilità, attualmente oggetto di valutazione.

DU-PAN$_2$ = antigene oncofetale di superficie dell'adenocarcinoma pancreatico; IAP = proteina acida immunosoppressiva; MCA = antigene del cancro mammario; NSE = enolasi neurone specifica; PAP = fosfatasi acida prostatica; PLAP = fosfatasi alcalina simil-placentare; POA = antigene oncofetale pancreatico; PSA = antigene prostatico specifico; TAF = fattore antigenico tumorale; TAG 72 = antigene glicoproteico associato al tumore; TK = timidinachinasi; TATI = inibitore tripsinico associato al tumore; TG = tireoglobulina; TPA = antigene polipeptidico tessutale.

misurazione per l'antigene carcinoembrionale (CEA), l'alfa-fetoproteina (AFP) e la gonadotropina corionica (HCG).

**Antigene carcinoembrionale (CEA)**

*Recenti acquisizioni sulla funzione biologica*

Il clonaggio del gene del CEA, riportato in letteratura nel 1986, ha rivelato che tale gene fa parte di una più ampia famiglia di geni omologhi strettamente associati. Attualmente si conoscono almeno 14 geni di questa famiglia, molti dei quali trascrizionalmente attivi, codificanti proteine con p. m. fra 50.000 e 180.000. È possibile oggi dividere tale famiglia di geni in 2 gruppi. Il primo contiene il gene che codifica per il CEA e gli antigeni classici cross-reagenti, come il NCA (*non specific cross-reacting antigen*, antigene non specifico cross-reagente) e il BGP (*biliary glycoprotein*, glicoproteina biliare). Quest'ultimo può essere espresso in neoplasie dello stomaco e colon senza però che vi sia una significativa differenza tra i livelli trascrizionali di mRNA per il BGP rilevabili negli stessi organi in condizioni normali.

L'altro gruppo contiene i geni che codificano per la PSG (*pregnancy-specific beta 1-glycoprotein*) o SP-1 (*Schwangerschafts protein 1*). La PSG costituisce un gruppo di glicoproteine trovate nella placenta e nei tumori di origine trofoblastica. L'mRNA di un nuovo membro del sottogruppo del CEA, forse NCA 95, è ritrovabile in leucociti di pazienti con leucemia mieloide cronica e, a concentrazioni più basse, nei globuli bianchi normali. Entrambi i gruppi di geni sono posti sul braccio lungo del cromosoma 19.

È ormai noto che la famiglia dei geni CEA fa parte della famiglia dei supergeni delle immunoglobuline. Tale osservazione ha reso possibile una prima interpretazione circa il ruolo di questi antigeni. Infatti i membri della famiglia delle immunoglobuline hanno la funzione di recettori o di molecole d'adesione. Il gruppo di Stanner e quello di Nakazato hanno evidenziato che il CEA a livello di membrana, e fors'anche il NCA, possono funzionare come molecole d'adesione. Per le glicoproteine PSG, che sono probabilmente molecole secrete, è stata peraltro proposta una possibile funzione di proteine della matrice extracellulare. Particolare interesse viene riposto in queste osservazioni alla luce dell'importanza delle interazioni cellula/cellula e cellula/matrice extracellulare per la progressione tumorale e la formazione di metastasi.

*Significato ed utilità clinica*

L'utilizzo di anticorpi monoclonali anti-CEA e degli Standard Internazionali di misurazione ha permesso di dosare il CEA nella popolazione sana. I livelli di CEA sono risultati inferiori a 5 ng/ml nel 95-98% dei casi. È indispensabile sottolineare che risultati positivi si possono ottenere anche nel corso di patologie non neoplastiche, come le malattie infiammatorie di fegato ed intestino (morbo di Crohn, rettocolite ulceroemorragica), nelle pancreatiti, gastriti, bronchiti e nei forti fumatori. Tali situazioni sono accomunate dalla presenza di un'intensa proliferazione della componente epiteliale, di metaplasia e displasia e quindi di aumento della produzione di glicoproteine come appunto il CEA. L'utilità del dosaggio del CEA risiede quindi non tanto nella fase diagnostica, quanto nella valutazione biologico-clinica della malattia, nel monitoraggio e nella valutazione della malattia avanzata. Fonte di utili informazioni si è rivelato il dosaggio del CEA nel *follow-up* di pazienti con neoplasie del retto-colon sottoposti ad intervento chirurgico ablativo. Livelli preoperatori alti di CEA possono infatti normalizzarsi se l'intervento è stato radicale, oppure aumentare progressivamente in relazione alla persistenza di un residuo tumorale o alla diffusione metastatica (soprattutto epatica). Il livello indicante una ripresa della malattia è fissato a 40 ng/ml quale punto di riferimento nel monitoraggio e come indice prognostico e predittivo sfavorevole della risposta ai trattamenti chemioterapici.

**Alfa-fetoproteina (AFP)**

*Funzione biologica*

L'AFP è una glicoproteina di p. m. 67.000, costituita da 585 aminoacidi e codificata da un gene presente sul braccio lungo del cromosoma 4 e strettamente associato al gene codificante per l'albumina. Considerando le numerose si-





Digitized by Google

militudini fra AFP e albumina, i due geni derivano probabilmente da un comune gene ancestrale. Numerosi sono gli studi condotti allo scopo di definire i parametri per la regolazione della sintesi di AFP e la correlata funzione biologica. Una prima ipotesi considera la sintesi dell'AFP legata ad un determinato stadio del ciclo cellulare della cellula epatica. Quindi l'AFP si renderebbe evidente negli stadi proliferativi dell'epatocita. Altri studi indicano nell'AFP un antigene fase-specifico, completamente o quasi represso nell'epatocita maturo. La rigenerazione e/o la malignità porterebbero ad una dedifferenziazione o retrodifferenziazione dell'epatocita e conseguentemente alla riespressione del gene per l'AFP.

L'mRNA dell'AFP è stato osservato in epoca embrionale solamente o preferibilmente a livello del sacco vitellino e del fegato. Essendo queste le sedi emopoietiche embrionali, l'AFP è stata posta in relazione con la formazione delle cellule ematiche. In effetti recenti studi hanno evidenziato uno stretto contatto fra epatocita produttore dell'AFP ed eritroblasto nel fegato fetale, con l'adesione e quindi la penetrazione dell'AFP nell'eritroblasto stesso. Da queste osservazioni hanno preso corpo le ipotesi che vedono l'AFP come elemento trasportatore di acidi grassi e/o immunosoppressore nel complesso meccanismo dell'emopoiesi.

*Significato ed utilità clinica*

Il ritrovamento nella vita adulta di alti livelli (> 20 ng/ml) di AFP può essere associato a quadri neoplastici (carcinoma epatico, gastrico, pancreatico, polmonare, etc.) o non neoplastici (epatectomia, epatite virale, epatite cronica attiva, cirrosi, etc.). In studi condotti su gruppi a rischio per l'insorgenza di tumori epatici primitivi, come le popolazioni Bantù, del Mozambico e della Malesia, si sono ritrovati valori di AFP superiori, ma non significativamente rispetto a popolazioni caucasiche considerate a basso rischio. L'AFP non può quindi essere considerata come un marcatore specifico di una neoplasia epatica primitiva. Tuttavia concentrazioni maggiori di 1000 ng/ml riducono il rischio di falsa positività essendo tali valori quasi sempre espressione di alterazione neoplastica. Nei pazienti giapponesi affetti da epatocarcinoma, concentrazioni di AFG > 10.000 ng/ml risultano indicative di una prognosi inferiore a 12 mesi. Considerando l'AFP come marcatore utilizzabile nel monitoraggio della neoplasia e tenendo presente il tempo di dimezzamento di 120 h, il ritrovamento di valori più alti rispetto a quelli osservati precedentemente è da considerare indice di non radicalità della resezione chirurgica e quindi indice prognostico negativo.

**Metodiche di laboratorio**

Anche in questo settore l'utilizzo sempre più diffuso dei dosaggi in uso e la necessità di una loro maggior sensibilità e specificità, ha portato a nuovi sviluppi tecnologici. L'elemento di base di queste metodiche è una reazione quantitativa tra antigene ed anticorpo specifico, che viene misurata con metodi immunoradiometrici. Tra questi metodi, che prevedono l'uso di isotopi radioattivi, è corretto definire RIA (*Radio-Immuno Assays*) quelle metodiche che prevedono la marcatura dell'antigene e IRMA (*Immuno-Radiometric Assays*) quelle che invece prevedono l'anticorpo marcato. Il metodo RIA è basato sul principio della competizione per l'anticorpo specifico (in quantità nota) tra antigene marcato (in quantità costante) e antigene non marcato (da dosare): in base a ciò la quantità di antigene da dosare è inversamente proporzionale alla radioattività del complesso antigene marcato-anticorpo. La tecnica IRMA invece si basa sul riconoscimento dell'antigene da dosare da parte di un anticorpo marcato. In questo caso la radioattività misurata sarà direttamente proporzionale alla quantità dell'antigene presente. Grazie a questa tecnica e all'impiego di anticorpi monoclonali è possibile ottenere una maggiore sensibilità e specificità. Ulteriormente aumentata è la specificità ottenibile mediante la tecnica cosiddetta «a due siti» dove vengono utilizzati due anticorpi monoclonali diretti verso epitopi differenti dell'antigene da determinare: un anticorpo è adsorbito su un supporto solido allo scopo di «catturare» l'antigene, l'altro è radiomarcato per misurarne la concentrazione. Recentemente sono stati messi a punto metodi di dosaggio immunometrici non isotopici che utilizzano, anziché isotopi radioattivi, dei traccianti marcati con enzimi (*Enzyme Immuno Assay*, EIA), con fluorofori (*Fluoro Immuno Assay*, FIA), con molecole luminescenti (*Luminescent Immuno Assay*, LIA). Accanto all'indiscutibile vantaggio di evitare ogni rischio biologico legato all'utilizzo di isotopi radioattivi, tali tecniche permettono di disporre di un più lungo periodo di lettura del tracciante, essendo questo tempo non più legato al decadimento della radioattività dell'isotopo.

**Bibliografia**

Abelev G. I., *Tumor Biol.*, 1989, **10**, 63.
Bates S. E., Longo D. L., *Sem. Oncol.*, 1987, **14**, 102.
Benchimol S., Fuks A., Jothy S. *et al.*, *Cell*, 1989, **57**, 327.
Bombardieri E., *Immunologia in medicina*, 1989, Edi-Ermes ed., Milano.
Breborowicz J., *Tumor Biol.*, 1988, **9**, 3.
Thompson J., Zimmermann W., *Tumor Biol.*, 1988, **9**, 63.
Winters W. D., *Cancer Det. Prev.*, 1983, **6**, 21.
Zimmermann W., Thompson J., *Tumor Biol.*, 1990, **11**, 1.

GIORGIO PARMIANI E FLAVIO ARIENTI

## ONCOGÈNI

F. *oncogènes*. - I. *oncogenes*. - T. *Onkogene*. - S. *oncogénos*.

Gli oncogèni sono forme alterate dei *protoncogèni*, geni questi presenti in ogni cellula umana con funzione di regolazione della moltiplicazione cellulare. Gli o. sono i responsabili della trasformazione della cellula normale in cellula neoplastica.

Secondo la teoria degli o., i diversi cancerogeni, chimici, fisici o virali indurrebbero la proliferazione neoplastica attraverso cambiamenti a carico dei *protoncogèni* che verrebbero trasformati in o.

Recentemente sono stati identificati anche gli *antioncogèni* (v.*), con azione regolatoria e di controllo nei confronti degli o.; diventerebbero responsabili del tumore, anche in assenza di o. attivo, quando venissero inattivati.

V. anche: TUMORI, XV, 835; TUMORI*; VIROLOGIA, XV, 2100-2102.

RED.

## ONDANSETRONE

F. *ondansétrone*. - I. *ondansetron*. - T. *Ondansetron*. - S. *ondansetrone*.

Antagonista selettivo dei recettori serotoninergici $5HT_3$, l'ondansetrone (Zofran®) è attivo contro la nausea e il vomito da terapia antiblastica (da cisplatino, ciclofosfamide, doxorubicina, fluorouracile e da radioterapia). La sua azione antiemetica, ulteriormente rafforzata dall'associazione con desametasone, è significativamente superiore a quella della metoclopramide.

Il meccanismo d'azione dell'o. è riferibile al blocco dei recettori $5HT_3$ localizzati nelle terminazioni vagali afferenti, nell'*area postrema* e nel nucleo del tratto solitario, la cui attivazione, ad opera della 5HT liberata per lisi cellu-



Digitized by Google

lare indotta dalla terapia citotossica, stimola il centro bulbare del vomito.

Dotato di discreta biodisponibilità (60%) e di una vita media di 3 h, l'o. viene generalmente somministrato per via e. v. (infusione iniziale di 8 mg in 15 min, 1/2 h prima della terapia antiblastica [v. TUMORI*], seguita da infusione continua di 1 mg/h per 24 h o da due dosi addizionali di 8 mg a intervalli di almeno 4 h). Nei casi in cui sia sufficiente una più blanda azione antiemetica l'o. viene somministrato *per os* 1-2 h prima della terapia antiblastica alla dose di 8 mg che viene ripetuta per due volte a intervalli di 8 h. In alcuni casi la terapia con o. è stata protratta nei cinque giorni successivi a quello del trattamento iniziale alla dose di 8 mg/*die*.

Gli effetti collaterali più frequenti sono la cefalea (superabile con antidolorifici), la stipsi o la diarrea; non si sono finora segnalati i disturbi extrapiramidali non di rado osservati con metoclopramide.

V. TUMORI*; TRIPTAMINA-5-IDROSSI*.

**Bibliografia**

Milne R. J., Heel R. C., *Drugs*, 1991, **41**, 574-595.

RED.

**OPPIACEI**: v. ANALGESICI*, *analgesici oppiacei* (col. 229); ANESTESIA CHIRURGICA* (coll. 370; 401); ANESTETICI* (col. 434); BUPRENORFINA* (col. 1168); DOLORE* (coll. 2257; 2261; 2262); LOPERAMIDE E DIFENOSSILATO* (col. 4714); MEPERIDINA (IX, 924); METADONE (IX, 1006); MORFINA (IX, 1910); MORFINOMIMETICI PEPTIDI (IX, 1929); NALORFINA E ANALOGHI (IX, 2330); NALOSSONE E NALTRESSONE*; NARCOTICI (IX, 2370); OPPIOIDI PEPTIDI*; PENTAZOCINA (XI, 1502); TOLLERANZA E SENSIBILIZZAZIONE FARMACOLOGICA*; TOSSICOMANIE (XV, 95); TOSSICOMANIE*; TUMORI (XV, 924); TUMORI*.

## OPPIOIDI PEPTIDI

F. *opioides peptides*. - I. *opioid peptides*. - T. *Opiatpeptiden*. - S. *opiodos peptidos*.

SOMMARIO



### Introduzione. Biogenesi

Sotto questo nuovo esponente (che costituisce la dizione più corretta) viene aggiornata la voce MORFINOMIMETICI PEPTIDI (IX, 1929-1943) di cui alcune parti vengono riprese in questa sede ai fini di un più organico collegamento; verrà comunque fatto preciso riferimento ai testi precedenti che non hanno subito sostanziali modificazioni.

La farmacologia molecolare ha confermato l'esistenza, nel cervello e alla periferia nervosa, di siti recettoriali con i quali interagiscono la morfina, alcaloide naturale dell'oppio, e tutti i numerosi oppiacei, semisintetici e sintetici (v. anche MORFINA; ANALGESICI*). L'identificazione e la caratterizzazione di recettori specifici per gli oppiacei (analgesiconarcotici) ha sollevato interrogativi circa il loro normale ruolo biologico e suggerito l'idea che gli oppiacei, in realtà, imitassero l'azione di sostanze endogene già naturalmente presenti nel cervello e quindi influissero, attraverso l'interazione recettoriale, su alcune funzioni del S.N.C.

Verso la metà degli anni 70, pressoché contemporaneamente, gruppi di ricerca svedesi (Terenius e Wahlstrom, 1975) e scozzesi (Hughes e Kosterlitz, 1975), rinvennero effettivamente, in estratti cerebrali di alcune specie animali, un «materiale» che interagiva coi recettori degli oppiacei e di questi replicava gli effetti biologici. Questo materiale, isolato e purificato, si caratterizzò come una miscela di due peptidi a breve sequenza aminoacidica. Il primo di questi *peptidi oppioidi* [p. o.] isolato dall'encefalo è costituito da 5 aminoacidi con un residuo di metionina in posizione 5 ed è stato denominato *metionin-enkefalina* ovvero *met-enkefalina*; nel secondo pentapeptide, una leucina sostituisce la metionina, da cui il nome di *leucin-enkefalina* ovvero *leu-enkefalina* (cfr. fig. 1, in MORFINOMIMETICI PEPTIDI, IX, 1931-1932). Si è riconosciuto ben presto che la sequenza aminoacidica della met-enkefalina è identica a quella del frammento contenente i residui aminoacidici 61-65 della β-lipotropina, un polipeptide costituito da 91 aminoacidi isolato nel 1964 da Li, dell'Università della California, dall'ipofisi di pecora.

L'attenzione riservata alla β-lipotropina era stata inizialmente piuttosto scarsa; pur possedendo, infatti, una modesta attività lipolitica in alcuni sistemi biologici, proprietà condivisa da ben noti ormoni ipofisari, la β-lipotropina non dimostrava un definito profilo ormonale, né la sua minima attività biologica consentiva di attribuirle un preciso significato fisiologico. La constatazione che la β-lipotropina (siglata internazionalmente come βLPH), di per sé sprovvista di attività oppioide, include tuttavia, fra i suoi 91 aminoacidi, la sequenza di un p. o., la β-endorfina (βLPH 61-91) (cfr. fig. 2, in MORFINOMIMETICI PEPTIDI, IX, 1931-1932) (Cox e Goldstein, 1975) è stata di grande stimolo per la ricerca. Sono ormai numerosi i peptidi ad attività oppioide individuati nell'ipofisi e in aree encefaliche distinte delle più diverse specie animali o dell'uomo stesso.

Questi «oppioidi» di natura peptidica e i numerosi altri successivamente identificati, nell'encefalo e alla periferia nervosa (anche di non mammiferi) vengono ora collettivamente indicati col nome generico di *endorfine* a significarne appunto l'origine endogena e le caratteristiche biologiche simili a quelle della morfina e degli oppiacei in genere: per la verità sarebbe molto più corretto dire che sono gli oppiacei (esogeni) a mimare gli effetti di questi peptidi (endogeni) e a riprodurne le azioni biologiche.

Il grande fervore di ricerca creatosi nei laboratori di tutto il mondo ha consentito di avvicinarsi con accresciuta precisione alla conoscenza della localizzazione e delle tappe biosintetiche che coinvolgono le endorfine. Anzitutto, le più raffinate tecniche immunocitochimiche, elettroforetiche, cromatografiche, etc. permettono di affermare che nella famiglia delle endorfine sono raccolti i peptidi caratterizzati dalla presenza, nella loro sequenza aminoacidica, di una enkefalina (met-enkefalina o leu-enkefalina). La forma finale nella quale essi vengono liberati è in realtà il risultato della scissione di peptidi precursori, di più grandi dimensioni, nei quali le diverse endorfine sono collocate, spesso interconnesse da ponti dipeptidici basici come la lisina-arginina. Per quanto è noto a tutt'oggi, sono almeno tre i presunti *peptidi precursori* inattivi da cui prendono origine, per intervento di peptidasi, le differenti endorfine (Numa *et al.*, 1982).

1. *Pre-pro-opiomelanocortina (POMC)*. – È un glicopeptide (265 aminoacidi) elaborato indipendentemente nell'adenoipofisi, nel lobo intermedio della stessa ghiandola e in aggregati neuronali del S.N.C. La pre-pro-opiomelanocortina subisce un processo di lisi, per l'elaborazione di



Digitized by Google

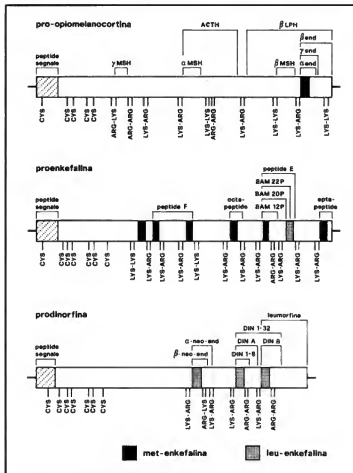



Fig. 1. Rappresentazione schematica della struttura della pro-opiomelanocortina (POMC), della proenkefalina A e della proenkefalina B (prodinorfina).

differenti prodotti finali, che è specifico nei vari tessuti: nella adenoipofisi dà luogo all'ormone adrenocorticotropo (ACTH) con le sue ben note funzioni trofiche sulla ghiandola surrenale (che giustifica la parte «cortina» del nome del precursore) e la già citata β-lipotropina; solo una piccola porzione della β-lipotropina, in questa sede, viene ulteriormente elaborata in β-endorfina. Nel lobo intermedio e nei neuroni del S.N.C. i prodotti finali sono l'ormone α-melanocita-stimolante (MSH) e, ancora, la *β-endorfina*; questo peptide è il più importante oppiode derivante dalla pro-opiomelanocortina: i suoi 31 aminoacidi costituiscono il frammento C terminale della β-LPH. Nell'ipofisi e nel cervello sono individuabili anche sequenze aminoacidiche più brevi di quella della β-endorfina e cioè la α-endorfina e la γ-endorfina, oltre a piccole quantità di met-enkefalina, tuttavia di questi peptidi non è stata dimostrata l'origine dalla β-endorfina stessa. La β-endorfina nell'ipofisi intermedia (ratto) viene convertita in una forma N-acetilata sprovvista di attività oppioide. La parte «melano» del nome pro-opiomelanocortina si riferisce alla sequenza dell'eptapeptide basico dell'α-MSH; una sequenza omologa è individuabile anche nel β-MSH e nel γ-MSH, una struttura a funzione melanocita-stimolante ripetuta quindi ben tre volte (fig. 1).

2. *Pre-pro-enkefalina A*. – In questo peptide precursore (263 aminoacidi) ci sono almeno 4 sequenze aminoacidiche (pentapeptidi) proprie della met-enkefalina più un eptapeptide (met-enkefalina-arginina-fenilalanina) e octapeptide (met-enkefalina-arginina-glicina-leucina) con un residuo di met-enkefalina. È individuabile, inoltre, una leu-enkefalina; tutte queste sequenze sono delimitate, da ambo i lati, da un dipeptide basico che rappresenta il punto di fram-




Digitized by Google

mentazione, di distacco, delle enkefaline dal loro peptide precursore.

Oltre alla met-enkefalina, altre sequenze aminoacidiche sono individuabili nella pro-enkefalina A, come il peptide E e il peptide F non ancora del tutto precisati: i frammenti del peptide E (BAM-22 P; BAM-20 P; BAM-12 P) sono ancora oggetto di discussione (fig. 1).

3. *Pre-pro-enkefalina B.* – Questo peptide (256 aminoacidi) è il precursore di una serie di peptidi intermedi di recente scoperta: α-neo-endorfina, β-neo-endorfina, dinorfine; il residuo leu-enkefalina è costantemente presente in essi, fiancheggiato da paia di aminoacidi basici e ha suggerito la denominazione del peptide precursore; per la rilevanza che i peptidi dinorfinici stanno assumendo, è stata proposta la sostituzione del nome con quello di *prodinorfina*, ovvero precursore delle dinorfine. Tutti questi peptidi sono potenti agonisti oppioidi, prescindendo dalla loro scissione in leu-enkefalina. Il primo peptide di questa famiglia ad essere identificato è stata la dinorfina 1-17 ovvero *dinorfina A* nella posizione 209-225 del peptide precursore, quindi un altro peptide dinorfinico, la *dinorfina B* (detta anche rimorfina) di 13 aminoacidi separato dal precedente, nel precursore, da una coppia di aminoacidi basici lisina-arginina. L'unione della dinorfina A a quella B tramite il ponte di due aminoacidi basici costituisce un peptide noto come *dinorfina 32* (aminoacidi dal 209 al 240). I residui 175-183 del precursore corrispondono al citato p. o. *β-neo-endorfina* affiancata anch'essa dalla solita coppia di aminoacidi lisina-arginina. L'estensione della β-neo-endorfina con un singolo residuo lisinico dà la *α-neo-endorfina* (fig. I).

4. *Altri peptidi oppioidi.* – Oltre a questi p. o. che fanno riferimento ai tre tipi di precursori, altri ne sono noti cui non si può tuttavia dare una precisa collocazione; alcuni sono indicati come *esorfine* per la loro origine esogena, come la *β-casomorfina* e correlati, estratti dalla caseina del latte; altri, come la *dermorfina* e le *deltorfine*, caratterizzati da un aminoacido serie «D» (D-alanina), sono estratti dalla pelle di anfibi (Erspamer e Melchiorri, 1989). Non è escluso, evidentemente, che altri peptidi con caratteristiche oppioidi possano essere individuati in un prossimo futuro, soprattutto quando si sarà pervenuti alla completa precisazione delle sequenze aminoacidiche dei tre precursori illustrati.

**Recettori degli oppiacei**

Lo studio dei recettori degli oppiacei (ovvero degli oppioidi), la loro tipizzazione e distribuzione nei vari organi, nelle varie frazioni subcellulari, in diverse specie e stadi di sviluppo (Pert e Snyder, 1974; Goldstein e James, 1984), sono stati di rilevante importanza per la comprensione delle funzioni dei p. o. Anzitutto è stato precisato che questi recettori non costituiscono affatto una popolazione omogenea ma, al contrario, si possono distinguere: *recettori μ* (mu), con affinità elevata per la morfina e i suoi congeneri (metadone) oltre che per i p. o. naturali met-enkefalina, β-endorfina ed altri, sintetici, come il DAGO e il DAMME (v. oltre); *recettori k* (kappa) caratterizzati da un'affinità particolarmente elevata per i p. o. dinorfinici e per l'oppiaceo sintetico ketociclazocina; *recettori* δ (delta) descritti soprattutto alla periferia nervosa che legano in modo preferenziale la leu-enkefalina, la deltorfina e, ancora, la β-endorfina. Alcuni oppiacei sintetici, agonisti parziali, come la pentazocina, si collegano ad un recettore particolare, il σ (sigma) con effetti dispercettivi che fanno ritenere questa struttura più propriamente catalogabile come un recettore per allucinogeni. In questi ultimi anni una serie di evidenze sperimentali suggerisce un'ulteriore suddivisione in una subpopolazione di recettori $\mu_1$ e $\mu_2$ (per quanto riguarda il μ recettore) e $k_1$, $k_2$ (per quanto riguarda il k recettore).

**Antagonisti**

In relazione anche alla struttura molecolare, alla configurazione sterica e ad ogni possibile variazione, pur modesta, della geometria molecolare, si possono classificare sostanze rispettivamente agoniste oppure *antagoniste* a livello dei descritti recettori: si può, cioè, passare da sostanze biologicamente attive come la morfina e i p. o., ad altre nettamente antagoniste nei loro confronti (di cui le più note sono il *nalossone* e il *naltressone* [v. NALOSSONE E NALTRESSONE*]), attraverso situazioni intermedie con composti ad azione mista, morfino-mimetica e contemporaneamente morfino-antagonista.

Lo stato funzionale recettoriale può essere orientato da varie condizioni ambientali: gli ioni sodio, ad es., forse perché influiscono sulla configurazione elettrochimica del recettore, accelerano la velocità di dissociazione dal recettore delle sostanze agoniste che divengono, pertanto, molto meno attive; al contrario, in accumulo di sodio, il recettore assume una configurazione più favorevole ad accogliere gli antagonisti.

**Distribuzione delle endorfine e presunte funzioni biologiche**

(Per una rassegna cfr. Ferri S., *Il controllo del dolore*, 1985; Olson, 1989).

Neuroni enkefalinergici sono individuabili in tutto il S.N.C., con una densità, per quanto riguarda il cervello, maggiore nel globo pallido, nel caudato e nel nucleo centrale dell'amigdala; il cervelletto, al contrario, è la regione con il più basso contenuto di enkefaline.

La β-endorfina varia notevolmente, per collocazione, rispetto alle enkefaline: la sua concentrazione maggiore si evidenzia, per quanto riguarda il corpo cellulare, a livello della zona tuberale dell'ipotalamo (compreso il nucleo arcuato); fibre che danno la reazione della β-endorfina si estendono oltre che ai nuclei ipotalamici, al nucleo paraventricolare del talamo, all'amigdala mediale, al setto. Della presenza nell'ipofisi si è già fatto cenno. Questo peptide non è sostanzialmente rappresentato a livello spinale.

I neuroni enkefalinergici sono, in genere, piccoli e provvisti di brevi e sottili assoni, mentre i neuroni endorfinergici appaiono di dimensioni maggiori, con tendenza al fusiforme. Questi caratteri distintivi rafforzano l'ipotesi che il sistema β-endorfinergico (o meglio tutto il complesso proopiomelanocortina) contribuisca al sistema ipotalamico di regolazione della *secrezione endocrina*, mentre alle enkefaline si ritiene di attribuire una funzione di *neurotrasmettitori*, di regolatori di svariate funzioni del S.N.C. Meno precisata è la localizzazione dei peptidi del sistema dinorfinico (pro-enkefalina B) ed è quindi prematura ogni ipotesi circa le loro possibili funzioni.

Gli studi sulla localizzazione dei p. o. e sulle loro funzioni sono in pieno svolgimento. Per quanto riguarda il cervello, l'osservazione della mappa di distribuzione delle endorfine (enkefaline incluse) coi loro recettori, fa emergere interessanti parallelismi fra funzioni fisiologiche delle aree cerebrali ed effetti farmacologici già da tempo accertati per gli oppiacei (tab. I).

Per l'analitica descrizione della distribuzione delle endorfine e delle presunte funzioni biologiche, v. MORFINOMIMETICI PEPTIDI (IX, 1937-1939). In questa sede aggiungiamo che la met-enkefalina è presente nell'intero tratto gastroin-



Digitized by Google

**TAB. I. AREE DI LOCALIZZAZIONE E POSSIBILI FUNZIONI DEI RECETTORI DEGLI OPPIACEI**

| Sede | Funzioni |
|---|---|
| *Midollo spinale* | Nocicezione |
| *Proencefalo* | |
| Nucleo del tratto solitario, *nucleus commissuralis*, nucleo ambiguo | Riflessi vagali, depressione del respiro e della tosse, ipotensione |
| Sostanza grigia periacqueduttale | Nocicezione |
| *Area postrema* | Nausea e vomito |
| *Locus coeruleus* | Euforia |
| Nucleo fascicolato retroflesso dell'abenula interpeduncolare | Effetti emozionali (limbici) |
| Nuclei ottici mediale e laterale | Miosi |
| Collicolo superiore | Miosi |
| Nucleo ventrale del corpo genicolato laterale | Miosi |
| *Diencefalo* | |
| Ipotalamo | Effetti endocrini |
| Talamo | Nocicezione |
| *Telencefalo* | |
| Amigdala | Effetti emozionali (limbici) |
| Caudato, *putamen*, *pallidus* | Rigidità motoria |
| Nucleo interstiziale della stria terminale | Effetti emozionali (limbici) |

testinale, congiuntamente ad altri oppioidi della famiglia delle dinorfine. La presenza dinorfinergica è accertata anche nell'uomo (Spampinato e Ferri, 1988) con distribuzione intramurale uniforme in tutti gli strati di stomaco, duodeno, digiuno, ileo, mentre nel colon le concentrazioni sono più elevate nella porzione muscolare. I p. o. possono essere di origine neuronale e/o contenuti nelle cellule endocrine. È possibile che questi peptidi, come altri di natura non oppioide, siano coinvolti nel controllo della motilità intestinale (Manara e Bianchetti, 1985) e nell'attività secretoria delle varie ghiandole del tratto digestivo.

**Effetti farmacologici**

Le ipotesi precedentemente formulate sulle possibili funzioni delle endorfine non si basano solo su considerazioni concernenti la loro distribuzione e stretta associazione con i recettori degli oppiacei nelle varie aree encefaliche con ben accertata fisiologia, ma trovano riscontro anche in numerose evidenze sperimentali che riguardano gli effetti farmacologici delle endorfine.

*Effetto analgesico ed effetto sul comportamento*

Per la descrizione analitica dell'*effetto analgesico* e dell'*effetto sul comportamento*, v. MORFINOMIMETICI PEPTIDI (XI, 1939-1941).

*Effetti sul sistema immunitario*

È chiaro che i p. o. più che giocare un unico ruolo, hanno numerose funzioni fisiologiche e che la loro importanza funzionale non è limitata al cervello. Recenti ricerche farmacologiche hanno sottolineato la modulazione del sistema immunocompetente in seguito alla somministrazione, all'animale e all'uomo, di oppioidi o di loro antagonisti. Risultati dello stesso significato sono stati ottenuti con esperimenti *in vitro*. Così, ad es., è stato descritto il legame della β-endorfina a certe frazioni del complemento e ai linfociti in coltura dell'uomo; la met-enkefalina aumenta la percentuale di cellule T attive; ambedue questi p. o. inibiscono, *in vitro*, la risposta anticorpale agli eritrociti di pecora, stimolano la chemiotassi delle cellule mononucleate, potenziano la citotossicità naturale (delle cellule *killer*). Non appare, infine, casuale il fatto che elementi come i macrofagi possano produrre essi stessi p. o. Si fa strada il convincimento che questi peptidi possano essere, analogamente ad altri, dei «neuroimmunopeptidi» preposti ad un *collegamento fra i sistemi neuroendocrino ed immunitario*. Nel complesso delle sperimentazioni farmacologiche, tuttavia, non sempre emergono risposte definitive circa il ruolo fisiologico dei p. o. in questo senso, per cui si rendono necessarie ulteriori indagini per superare gli aspetti più contraddittori (Teschemacher e Schweigerer, 1985).

*Effetti cardiovascolari*

Da quanto emerge da una serie di esperimenti *in vivo* e *in vitro*, in preparati con innervazione cardiaca conservata o rimossa, si ritiene che le azioni cardiovascolari degli oppioidi siano rivolte alla modulazione delle risposte riflesse che normalmente si attuano in questo apparato (Carr, 1988). La modulazione è di tipo inibitorio, solo occasionalmente facilitatorio: gli oppioidi, ad es., inibiscono gli effetti cronotropo e inotropo indotti dalle catecolamine, riducono la pressione arteriosa quando il tono simpatico è elevato. Queste azioni cardiovascolari si attuano per un complesso di interventi delle endorfine non solo a livello locale ma anche centrale, sui nuclei del vago e sull'ipotalamo, sito di integrazione delle risposte vegetative, come è documentato d'altronde dalla ricchezza di recettori per gli oppioidi propria di tali zone.

**Tolleranza agli effetti farmacologici delle endorfine e fenomeno della dipendenza**

Un altro problema sollevato dalla scoperta delle endorfine è stato quello dell'accertamento del fenomeno della tolleranza. Alla pari degli oppiacei, cioè, la somministrazione protratta delle endorfine esita in una progressiva riduzione, sino a scomparsa, degli effetti farmacologici. Inoltre, la sospensione brusca di una somministrazione cronica di endorfine, nell'animale, può dar luogo, sempre come si verifica per gli oppiacei, ad una «sindrome di astinenza», indicativa di una condizione di dipendenza dal composto. È descritta anche una tolleranza e dipendenza crociata delle endorfine nei confronti degli oppiacei (Waterfield *et al.*, 1976).

V. anche: TOLLERANZA E SENSIBILIZZAZIONE FARMACOLOGICA*; TOSSICOMANIE*.

**Degradazione degli oppioidi. Peptidi oppioidi sintetici**

Le endorfine subiscono una rapida degradazione enzimatica nei vari sistemi biologici, e passano con difficoltà dal sistema circolatorio al cervello.

Gli enzimi che degradano gli oppioidi sono *peptidasi* di vario tipo. Quelle sinora note non sono tuttavia localizzate nei soli neuroni e per di più la loro funzione si esercita anche su una quantità di altri peptidi come, ad es., la bradichinina e la sostanza P. Viceversa altre peptidasi note per aggredire substrati peptidici distinti, come l'enzima di conversione dell'angiotensina (ACE), idrolizzano anche i p. o.



Digitized by Google

Pur in assenza di una specificità assoluta, una serie di considerazioni biochimiche, istologiche e farmacologiche inducono ad attribuire a taluni enzimi peptidasici un ruolo nel *turnover* fisiologico degli oppioidi.

Fra gli enzimi maggiormente coinvolti nella degradazione delle enkefaline vanno citati i seguenti.

*Dipeptidilcarbossipeptidasi.* – Enzima di membrana definito anche enkefalinasi A. La sua distribuzione è ben correlata con quella dei recettori degli oppioidi e con quella dei p. o. stessi. Agisce a livello del legame glicina-fenilalanina. Viene inibita da farmaci come il *tiorfano*, l'*acetorfano*, il *kelatorfano*.

*Aminopeptidasi.* – Enzima presente in forma solubile, non legato alle membrane. Agisce a livello del legame tirosina-glicina, staccando il residuo aminoacidico tirosina. Viene inibita da farmaci come la *bestatina*, l'*anastatina*, la *bacitracina*.

*Dipeptidilaminopeptidasi.* – Definita anche enkefalinasi B. Agisce a livello del legame glicina-glicina. La sua specificità per le enkefaline è piuttosto bassa.

*Carbossipeptidasi.* – Sono genericamente attive sui peptidi, staccando il residuo aminoacidico COOH terminale.

La dimostrazione sperimentale di una attività antinocicettiva di alcuni dei citati inibitori delle enkefalinasi, come il tiorfano, la bestatina, etc., somministrati da soli o in associazione con le enkefaline stesse, conferma l'importanza degli enzimi di degradazione nel *turnover* fisiologico delle enkefaline.

Sono state operate opportune modificazioni nella sequenza aminoacidica delle enkefaline che hanno consentito di disporre di analoghi strutturali più resistenti alla degradazione proteolitica e in grado di raggiungere più agevolmente i siti recettoriali del cervello anche dopo somministrazione periferica.

Questi analoghi strutturali sono ormai numerosi, come si può riscontrare anche dalla tab. II. È paradigmatica la D-met-2-pro-5-enkefalinamide realizzata per sostituzione, nella met-enkefalina, della glicina in posizione 2 con la D-metionina e della metionina in posizione 5 con la prolinamide. Questi p. o. sintetici sono generalmente più attivi come analgesici degli omologhi naturali e della morfina stessa, su base molare. Tuttavia, anche queste molecole non si sottraggono, come emerge da studi sugli animali, all'inconveniente di indurre tolleranza e dipendenza fisica. Alcune di queste molecole, inoltre, somministrate per via intramuscolare hanno evocato reazioni locali e generali riferibili probabilmente a fenomeni di ipersensibilizzazione, in considerazione della loro natura peptidica.

Il problema della farmacodipendenza dagli oppiacei resta tuttora irrisolto pur dopo la scoperta, di così grande rilevanza, dei p. o. Una soluzione scientifica e terapeutica potrebbe venire da una più precisa conoscenza delle vie metaboliche di sintesi e degradazione delle endorfine, nonché dei meccanismi coinvolti nella loro liberazione nei singoli distretti nervosi.

**TAB. II. EFFICACIA ANALGESICA DOPO SOMMINISTRAZIONE INTRACEREBROVENTRICOLARE DI ENDORFINE NATURALI E SINTETICHE**

| | Analgesia |
|---|---|
| Tyr-Gly-Gly-Phe-Met (met-enkefalina) | 1 |
| Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu (leu-enkefalina) | 0,5 |
| Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Met | 100 |
| Tyr-D-Met-Gly-Phe-Pro-amide | 1.500 |
| Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Met-olo | 1.600 |
| Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Met(O)-olo | 9.600 |
| Tyr-D-Ala-Gly-MePhe-Met(O)-olo | 28.800 |
| β-endorfina | 1.234 |
| Morfina | 33 |

La potenza è espressa in riferimento alla met-enkefalina posta = 1.

**Endorfine ed analgesia da agopuntura**

La scoperta delle endorfine ha portato un contributo significativo all'interpretazione neurofisiologica dell'analgesia da agopuntura (v. AGOPUNTURA; AGOPUNTURA*) (Han, 1987).

Per la trattazione analitica di questo argomento, v. MORFINOMIMETICI PEPTIDI, IX, 1942-1943.

**Bibliografia**

Akil H. *et al.*, *Ann. Rev. Neurosci.*, 1984, **7**, 223.
Belluzzi J. D., Grant N. *et al.*, *Nature*, 1976, **260**, 625.
Carr D. B., *Int. Anesth. Clin.*, 1988, **26**, 273.
Cheng R. S. S., Pomeranz B., in van Ree J. M., Terenius L. eds., *Characteristics and Function of Opioids*, 1978, Elsevier, North-Holland, Amsterdam, p. 163.
Cox B. M., Goldstein A., *Life Sci.*, 1975, **16**, 1777.
Erspamer V., Melchiorri P., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1989, **86**, 5188.
Ferri S., *Il controllo del dolore*, 1985, Il Pensiero Scientifico Editore, Roma.
Fields H. L., Basbaum A. I., in Wall P. D., Melzack R. eds., *Textbook of Pain*, 1984, Churchill Livingstone, New York, p. 142.
Goldstein A., James I. F., *Trends Pharmacol. Sci.*, 1984, **5**, 503.
Han J. S., *The Neurochemical Basis of Pain Relief by Acupuncture*, 1987, Bejing Med. University.
Höllt V., *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 1986, **26**, 59-77.
Hughes J., Kosterlitz H. W., *Nature*, 1975, **258**, 577.
Iversen S. D., in Smith, Lane eds., *The Neurobiology of Opiate Reward Processes*, 1983, Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, 439.
Jaffe J. H., Martin W. R., *Opioid Analgesics and Antagonists*, in *Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics*, 1990, 8 ed., Pergamon Press, New York, p. 485.
Li C. H., *Nature*, 1964, **201**, 924.
Loh H. H., Tseng L. F. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1976, **73**, 2895.
Manara L., Bianchetti A., *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 1985, **25**, 249.
Mayer D. J., Price D. D., Raffii A., *Brain Res.*, 1977, **121**, 368.
McKelvy J. F., Blumberg S., *Ann. Rev. Neurosci.*, 1986, **9**, 415.
Numa S. *et al.*, *Nature*, 1982, **298**, 245.
Olson G. A. *et al.*, *Peptides*, 1989, **10**, 1253.
Pert C. B., Snyder S. H., *Mol. Pharmacol.*, 1974, **10**, 868.
Schwartz J. C. *et al.*, *Trends Pharmacol. Sci.*, 1985, **6**, 472.
Scotti de Carolis A. *et al.*, *Pharmacol. Res. Commun.*, 1980, **11**, 78.
Sjolund B., Terenius L., Erikson M., *Acta Physiol. Scand.*, 1977, **100**, 382.
Spampinato S., Ferri S. *et al.*, *Neuropeptides*, 1988, **11**, 101.
Terenius L., Wahlstrom A., *Acta Physiol. Scand.*, 1975, **94**, 74.
Teschemacher H., Schweigerer L., *TIPS*, 1985, **6**, 368.
van Ree J. M., De Wied D., *Neuropharmacol.*, 1981, **20**, 1271.
Waterfield A. A., Hughes J., Kosterlitz H. W., *Nature*, 1976, **260**, 624.
Yaksh T. L., Noueihed R., *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 1985, **25**, 433.

SERGIO FERRI

## ORALE AMBIENTE

F. *milieu buccal*. - I. *oral environment*. - T. *Mundumwelt*. - S. *ambiente bucal*.

SOMMARIO



### Premessa

Speciale interesse è stato rivolto in questi ultimi tempi alla bocca intesa come «compartimento» e allo studio dei vari caratteri dell'*ambiente orale* e dei fattori da cui essi dipendono. Il mantenimento di un a. o. ottimale costituisce requisito essenziale per l'integrità delle varie strutture della bocca (rivestimento mucoso, lingua, denti) e per il normale svolgimento delle molteplici attività funzionali in cui essa è coinvolta, da quelle connesse con l'alimentazione e la digestione (masticazione, salivazione, deglutizione) alle diverse forme di sensibilità orale (meccanocettiva, termica, dolorifica, gustativa), dalla respirazione alla fonazione e all'articolazione della parola. L'ecosistema orale offre, inoltre, le condizioni per lo sviluppo dell'abbondante flora microbica che normalmente colonizza la cavità buccale e che a sua volta in vario modo ne può influenzare le caratteristiche ambientali. Lo studio di queste e dei diversi fattori che le determinano o in qualche modo le condizionano incontra non poche difficoltà, principalmente a causa della variabilità a cui l'a. o. è esposto, anche in uno stesso individuo. È uno studio che ha ricevuto recentemente nuovo impulso da un affinamento delle tecniche di indagine e anche dall'adozione di modelli artificiali di cavità orale che, simulando condizioni paragonabili a quelle naturali, ma modificabili sotto stretto controllo, ha permesso di seguire con criteri più rigorosamente quantitativi il comportamento di alcuni dei caratteri dell'a. o. in differenti circostanze.

### Fattori dell'ambiente orale

Sono numerosi i fattori da cui dipendono le caratteristiche dell'ecosistema orale. Un ruolo essenziale ha la secrezione della *saliva*, che è il costituente fondamentale del mezzo liquido dell'a. o. e come tale ne determina in massima parte i caratteri. Una sua variazione di flusso o di composizione si ripercuote immediatamente su di essi. Alla saliva si aggiungono il *liquido gengivale*, sia pure con flusso estremamente più scarso e incostante, e la secrezione mucosa delle pareti del cavo orale con i prodotti della loro desquamazione. Anche la capacità di assorbimento della mucosa della bocca è un fattore che concorre a condizionare l'a. o.

Una parte rilevante è poi quella della flora microbica orale e dei prodotti della sua attività. Altri fattori sono il flusso nella cavità buccale dell'aria in- ed espiratoria e il transito di bevande e di cibi o di qualsiasi altra sostanza, assunta dall'esterno o proveniente attraverso il retrobocca dalle vie aeree o digerenti (muco, vomito, etc.). È superfluo, infine, rilevare che l'a. o. subisce l'influenza di qualsiasi condizione, locale o generale, che comporti una modificazione della irrorazione sanguigna o del trofismo dei tessuti orali o ne comprometta comunque l'integrità (stati psicoemotivi, patologie locali, carenze nutrizionali, immunodeficienze, malattie generali di varia natura, etc. [v. BOCCA, III, 46]).

Il liquido dell'a. o. è costituito, come si è detto, pressoché interamente dalla saliva e solo da piccole quantità di liquido gengivale. Di queste due componenti, la saliva viene definita un elemento «proprio», in quanto specifico dell'a. o., «costante» giacché è sempre presente sia pure in quantità variabile, ma «provvisorio» perché viene più o meno rapidamente rimosso per deglutizione. Elemento «proprio» e «provvisorio» viene definito per le stesse ragioni anche il liquido gengivale che tuttavia, a differenza della saliva, viene considerato «incostante» perché la sua formazione è strettamente dipendente dallo stato delle pareti del solco gengivale (v. GENGIVALE LIQUIDO*, col. 3361). Questa falda liquida di duplice origine che bagna il rivestimento mucoso delle pareti del cavo orale, le gengive, la lingua e i denti, veicola prodotti di secrezione della mucosa, sostanze alimentari, microrganismi, cellule epiteliali desquamate, gas e eventuali altri elementi dell'a. o., alcuni costanti e altri no (fig. 1).

### Caratteri dell'ambiente orale

Esposto come è all'influenza di svariati fattori, l'a. o. ha caratteri che possono ampiamente variare. Qualsiasi evento che coinvolga il cavo orale può modificarli, anche se per breve tempo. Basta la semplice introduzione in bocca di cibi e bevande o di sostanze della più diversa natura (farmaci, sostanze voluttuarie, etc.) per produrre sia pure temporaneamente brusche modificazioni dell'a. o., sia per effetto diretto delle caratteristiche del materiale introdotto (temperatura, grado di acidità, natura chimica, carica batterica, etc.) sia per le risposte da questo suscitate (variazioni della secrezione salivare, reazioni vasomotorie locali, etc.). Ma anche in condizioni di base, lontano cioè da eventi di questo tipo, si registrano variazioni, come quelle riferibili, ad es., a oscillazioni di flusso e composizione della saliva legate a ritmi circadiani.

La *temperatura* media normale del cavo orale (36,7 °C ± 0,5 °C nella regione sublinguale) è strettamente dipendente dalle condizioni circolatorie locali e dalla temperatura del sangue. Variazioni occasionali di breve durata sono dovute principalmente all'ingestione di cibi o bevande. Nella respirazione attraverso la bocca, il flusso dell'aria inspirata ha un suo effetto sulla temperatura orale, specie nei climi freddi, effetto che si estingue in brevissimo tempo anche ad opera della corrente aerea espiratoria. Altre variazioni si registrano nel corso della giornata in rapporto con l'attività fisica dell'individuo oltre che, naturalmente, con i ritmi circadiani (v. TEMPERATURA CORPOREA, XIV, 1956).

Esistono differenze di temperatura anche sensibili tra una zona e l'altra del cavo orale. La temperatura va crescendo dalle zone anteriori a quelle posteriori. La temperatura della regione sublinguale è la più vicina a quella del «nucleo» corporeo. La temperatura dell'arcata mandibolare è più alta di quella dell'arcata mascellare. L'impiego di termorilevatori elettronici miniaturizzati ha permesso recentemente lo studio della temperatura di aree assai circoscritte dell'a. o., come i solchi e le creste gengivali in corrispondenza dei singoli denti (fig. 2).

Il *pH* dell'a. o. è essenzialmente quello della saliva, assai prossimo a 7, e segue di norma le sue oscillazioni (v. SALIVA, XIII, 1720). È influenzato fortemente dalle variazioni del flusso salivare. Aumenta con l'aumentare di esso, insieme con la concentrazione di bicarbonati e, come questa, si riduce quando il flusso diminuisce. Scende nel sonno e aumenta durante i pasti, in concomitanza con corrispondenti variazioni del flusso. Entro 1-2 h dal pasto il pH si riporta ai valori di base. Vanno anche considerate le modificazioni transitorie del pH dovute all'effetto diretto dell'assunzione nel cavo orale di sostanze (cibi, bevande, farmaci, etc.) a reazione acida o alcalina di vario grado. Si tratta di variazioni che vengono in breve tempo contenute



Digitized by Google

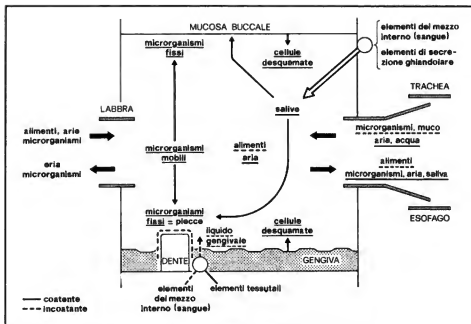



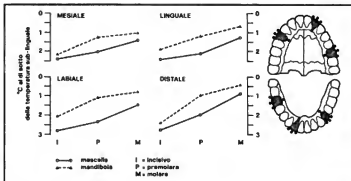
Fig. 1. Rappresentazione schematica dell'a. o. (*Da Pellat, modificata e ridisegnata*).

e rimosse sia dal potere tampone del liquido dell'a. o. sia dal suo continuo rinnovamento (v. sotto).

Il potere tampone del liquido orale è dovuto in massima parte ai bicarbonati, e aumenta con l'aumentare del flusso salivare, come la loro concentrazione. Lo smorzamento delle variazioni del pH orale e il suo mantenimento su valori vicini alla neutralità permettono un'attività ottimale dell'amilasi salivare e condizionano il trofismo dei tessuti orali. Al di sotto di un «pH critico», valutabile intorno a 5,5 ma variabile da un soggetto all'altro in rapporto a vari fattori, può aversi demineralizzazione dello smalto, che può costituire l'avvio di un processo carioso. Particolare importanza si attribuisce a questo riguardo al pH del microambiente della placca dentale a diretto contatto del dente, secondo la teoria attualmente più accreditata sulla patogenesi della carie (v. CARIE DENTALE, III, 1066; CARIE DENTALE*, col. 1334).

Il mezzo liquido dell'a. o. ha un'elevata *viscosità*, dovuta

Fig. 2. Temperature medie di punti in posizione mesiale, distale, labiale e linguale della cresta gengivale di incisivi, premolari e molari dell'arcata mascellare e di quella mandibolare. *A sinistra e al centro*: temperature medie ottenute, espresse in valori differenziali rispetto alla temperatura sublinguale presa come riferimento. *A destra*: punti in corrispondenza dei quali sono state effettuate le misurazioni. (*Da Volchansky et al.*).

Digitized by Google

soprattutto alla presenza di glicoproteine, principalmente quelle secrete con la saliva dalle ghiandole sottomandibolari e sottolinguali. Ad esse va in massima parte riferita l'azione lubrificante e aggregante posseduta dal liquido dell'a. o., azione di cui è nota l'importanza nella formazione del bolo alimentare e nella sua deglutizione, nella protezione della mucosa orale, nel facilitare i movimenti della lingua e del palato molle e in particolare l'articolazione del linguaggio.

La *composizione chimica* del liquido orale è fondamentalmente quella della saliva mista, alla cui formazione concorrono le diverse ghiandole salivari maggiori e minori (v. SALIVARI GHIANDOLE, XIII, 1728), con l'aggiunta di piccole quantità di liquido gengivale. L'acqua è il componente estremamente più abbondante dal momento che le sostanze solide costituiscono complessivamente solo l'1% circa del totale. Nelle voci di questa opera che trattano della saliva e del liquido gengivale è dettagliatamente riportata la composizione di queste due componenti dell'a. o. (v. GENGIVALE LIQUIDO*, col. 3361; SALIVA, XIII, 1720). Il contributo del liquido gengivale è quantitativamente assai limitato, se si considera che nelle 24 h se ne producono normalmente 0,5-2,4 ml, contro un flusso salivare giornaliero di 1000-1500 ml. Va segnalato, tuttavia, il suo ruolo come veicolo di ingresso nell'a. o. di diverse sostanze di provenienza ematica e tessutale (albumine, immunoglobuline, fattori del complemento, enzimi, etc.) e di leucociti, partecipanti ai meccanismi di difesa del cavo orale e in particolare del solco gengivale, e non va dimenticata l'influenza che alcuni suoi costituenti (tra cui $Ca^{2+}$, lipidi, urea) esercitano sulla formazione e sui caratteri della placca dentale.

Sia la saliva che il liquido gengivale possono influenzare i caratteri dell'a. o. anche come possibili vie di eliminazione di varie sostanze (v. FARMACI, VI, 793; GENGIVALE LIQUIDO*, col. 3361; SALIVA, XIII, 1720).

Anche la composizione chimica dell'a. o., naturalmente, può subire le modificazioni più varie, sia qualitative che quantitative, anche se temporanee, in occasione dell'ingestione di alimenti liquidi o solidi o di sostanze di altra natura.

Numerosissimi microrganismi sono ospiti abituali dell'a. o., alcuni mobili nel liquido della cavità buccale altri adesi alla superficie delle varie mucose e dei denti. La *microflora orale* comincia ad insediarsi subito dopo la nascita e comprende una grande varietà di microrganismi, tra cui prevalgono streptococchi (*Streptococcus sanguis*, *S. salivarius*, *S. mutans*) e veillonelle (*Veillonella gazogenes* e altre), ma si trovano anche actinomiceti, lattobacilli, fusobatteri, spirochete, miceti e vari tipi di virus (v. BOCCA, III, 45). Lo sviluppo dei diversi microrganismi dipende da numerosi fattori, quali la disponibilità nel cavo orale di idonei nutrienti (forniti principalmente da residui alimentari e, in misura minore, da cellule di sfaldamento della mucosa e da leucociti, per cui la disponibilità di materiale nutritivo è condizionata in gran parte dalle abitudini alimentari del soggetto), i meccanismi immunitari di difesa dell'a. o., l'igiene orale, complessi equilibri dei rapporti (di competizione, antagonismo, commensalismo, etc.) tra le diverse specie microbiche. I batteri si distribuiscono in maniera differenziata nelle varie aree dell'a. o. (tab. I), per cui vengono a individuarsi diverse nicchie ecologiche (liquido orale libero, superficie della lingua e altre mucose, superficie dei denti, solchi gengivali), ciascuna con una sua propria microflora. I microrganismi liberi nella cavità buccale sono di continuo asportati insieme con il liquido orale che ininterrottamente viene rinnovato.

L'attività della popolazione microbica orale dà luogo alla formazione di un gran numero di sostanze (ammoniaca, urea, composti indolici, amine, polisaccaridi, endotossine, ialuronidasi, proteasi, sostanze prostaglandino-simili, e varie altre), ma per molte di esse l'effettiva influenza sull'a. o. non è ben nota. Attenzione particolare è stata rivolta alla placca dentale (v.*), nel cui microambiente a diretto contatto con il dente possono concentrarsi i prodotti del metabolismo di miliardi di microrganismi, e alla cui attività si riconosce un ruolo ben definito nell'etiopatogenesi della carie dentale (v. CARIE DENTALE, III, 1066; CARIE DENTALE*, col. 1334) e della malattia parodontale (v. PARODONTALE MALATTIA, XI, 1164).

Condizioni patologiche che direttamente o indirettamente coinvolgono l'a. o. possono ovviamente alterare anche profondamente il quadro microbiologico orale. È stato accertato, inoltre, che vari tipi di microrganismi patogeni possono essere eliminati attraverso la saliva (v.).

**Meccanismi di «clearance» orale**

Meccanismi di varia natura hanno il compito di mantenere l'a. o. in condizioni di relativa stabilità nonostante la grande variabilità alla quale è soggetto. Tra questi un ruolo essen-

**TAB. I. DISTRIBUZIONE DIFFERENZIATA DEI BATTERI NELL'AMBIENTE ORALE**
(da S. Hamada e H. D. Slade, *Microbiol. Rev.*, 1980, 44, 331-384)

| Gruppi | Placca dentale | Lingua | Solchi gengivali | Saliva |
|---|---|---|---|---|
| | Colture % | | | |
| Cocchi aerobi facoltativi grampositivi | | | | |
| Streptococchi | 27,8 | 38,1 | 27,1 | 41,0 |
| Stafilococchi | 0,3 | 6,3 | 1,6 | 4,0 |
| Cocchi anaerobi grampositivi | 12,6 | 4,1 | 7,4 | 13,0 |
| Cocchi aerobi facoltativi gramnegativi | 0,4 | 3,3 | 0,4 | 1,2 |
| Cocchi anaerobi gramnegativi | 6,4 | 16,0 | 10,7 | 15,9 |
| Bacilli aerobi facoltativi grampositivi | 23,7 | 13,0 | 15,3 | 11,8 |
| Bacilli anaerobi grampositivi | 18,4 | 8,1 | 20,2 | 4,8 |
| Bacilli aerobi facoltativi gramnegativi | 0 | 3,0 | 1,2 | 2,5 |
| Bacilli anaerobi gramnegativi | 10,4 | 8,1 | 16,1 | 4,8 |
| Spirochete | 0 | 0 | 0 | 1,0 |



Digitized by Google

ziale ha la secrezione della saliva, il cui flusso variabile, ma ininterrotto, va a rinnovare continuamente il mezzo liquido dell'a. o. sostituendo quello che viene rimosso per deglutizione. Ciò evidentemente ha l'effetto non solo di allontanare meccanicamente dal cavo orale residui alimentari, altri materiali incongrui o batteri, ma anche quello di ripristinare le caratteristiche di base (pH, composizione chimica, etc.) proprie del liquido orale. Si aggiunga che questo meccanismo di «clearance» può essere potenziato dall'aumento del flusso salivare evocato in via riflessa per stimolazione di recettori orali (meccanocettori, nocicettori, recettori gustativi) provocata dalla presenza stessa dei materiali da rimuovere.

Una parte importante nei processi di «clearance» orale è quella della lingua, che grazie alla sua elevata sensibilità e alla sua abilità motoria provvede a localizzare e a rimuovere dal vestibolo della bocca, dagli spazi tra i denti, dal cavo orale in generale, residui alimentari o materiali di altro tipo, avviandoli alla deglutizione o, più raramente, espellendoli all'esterno, coadiuvata in questa sua funzione da idonei movimenti delle labbra e delle guance.

Assai studiata è la «clearance» orale dei carboidrati, in particolare del saccaroso, per il fatto ben noto che da essi possono prodursi per attività di batteri della placca dentale acidi organici ad azione cariogena. Lo zucchero viene allontanato dall'a. o. per diluizione con nuova saliva e successiva deglutizione. Recentemente (Dawes, 1983) è stato formulato per questo processo di «clearance» salivare un modello matematico, che può essere valido oltre che per lo zucchero anche per altre sostanze e che comprende numerosi parametri. Da studi mediante simulazione al computer i più importanti tra essi appaiono il flusso salivare e i volumi del liquido nel cavo orale prima e dopo deglutizione. Con l'aumento del flusso e la diminuzione dei volumi del liquido orale, per aumento della frequenza di deglutizione, si riduce il tempo richiesto per la «clearance» dello zucchero. È stata anche analizzata l'influenza di questi parametri sulle variazioni di pH prodotte dai batteri della placca dentale, mediante modelli artificiali di cavità orale che consentono lo studio dei fenomeni su scala molto maggiore.

**Cenni di immunologia dell'ambiente orale**

Dal sangue e dai tessuti del distretto orofaringeo affluiscono nel cavo buccale elementi cellulari e fattori umorali impegnati nelle difese immunitarie dell'a. o. Oltre che nelle tonsille dell'anello di Waldeyer, cellule linfoidi si trovano, diffusamente distribuite, nella mucosa e sottomucosa delle gengive e di tutta la cavità orale e tra gli acini delle ghiandole salivari. I leucociti affluiscono in numero rilevante nell'a. o. (fino a circa 1.000.000/min), veicolati principalmente dal liquido gengivale, rappresentati per oltre il 90% da polimorfonucleati neutrofili, che in gran parte si mostrano capaci di attività fagocitaria, e per il resto da linfociti T e B (presenti nel liquido gengivale in rapporto inverso a quello nel sangue), da monociti e eosinofili.

Fattori umorali di difesa si immettono nell'a. o. con la saliva e il liquido gengivale. Tra le immunoglobuline salivari, la componente più rilevante è rappresentata dalle IgA secretorie prodotte dalle plasmacellule delle ghiandole salivari. Si calcola che circa 200 mg di IgA passino nelle 24 h nell'a. o. La loro funzione principale è probabilmente quella di opporsi alla fissazione di microrganismi alla mucosa orale e alla superficie dei denti, oltre che esercitare un effetto protettivo contro antigeni di varia natura. Secondo alcune osservazioni la concentrazione di IgA secretorie salivari risulterebbe più elevata nei soggetti meno suscettibili alla carie dentale. Anche IgG e IgM affluiscono in quantità non trascurabili nell'a. o., sia con la saliva sia con il liquido gengivale, che veicola anche componenti del complemento.

Una modesta attività antibatterica nell'a. o. viene attribuita ad alcuni fattori aspecifici (lisozima, perossidasi, lattoferrina) immessi con la saliva e in minor misura con il liquido gengivale.

Per la *patologia* dell'a. o. si rimanda a quanto riferito nelle voci: BOCCA, III, 46; CARIE DENTALE, III, 1066; CARIE DENTALE*, col. 1334; MIKULICZ, SINDROME DI, IX, 1509; PARODONTALE MALATTIA, XI, 1164; PLACCA DENTALE*; SALIVARI GHIANDOLE, *patologia*, XIII, 1753; SCIALORREA, XIII, 2188; SJÖGREN, SINDROME DI, XIV, 427; STOMATITI, XIV, 1377.

V. anche: ORALE IGIENE*.

**Bibliografia**


Azzolina L. S., *Immunologia e immunopatologia del cavo orale*, 1987, USES, Firenze.
Cimasoni G., *Crevicular Fluid Updated*, 1983, Karger, Basel.
Dawes C., *Caries Res.*, 1983, **17**, 321.
Dolby A. E., Walker D. M., Matthews N., *Immunologia del cavo orale*, 1983, Piccin, Padova.
Ferguson D. B., *The Environment of the Teeth*, 1981, Karger, Basel.
Jenkins G. N., *The Physiology and Biochemistry of the Mouth*, 1978, Blackwell, Oxford.
Lagerlöf F., Dawes R., Dawes C., *J. Dent. Res.*, 1984, **63**, 1266.
Osborn J. W., Armstrong W. G., Speirs R. L., *A Companion to Dental Studies*, vol. I, book 1, 1982, Blackwell, Oxford.
Pellat B., *Actualités Odonto-stomatologiques*, 1985, **149**, 23.
Volchansky A., Cleaton-Jones P., Wright P. G., Fatti L. P., *J. Dentistry*, 1985, **13**, 323.


PIETRO O'ARCANGELO

## ORALE IGIENE

F. *hygiène bucco-dentaire*. - I. *oral health*. - T. *Mündliche Hygiene*. - S. *higiene oral*.

SOMMARIO



**Introduzione**

Il termine di *malattie bucco-dentali* comprende un discreto numero di patologie di notevole importanza sociale sia per i Paesi industrializzati che per quelli in via di sviluppo. Esse comportano, se trascurate, un danno grave alla funzione estetica e masticatoria e talvolta impediscono un'efficace funzione dell'apparato della fonazione.

La carie (dal latino *caries* che significa mancanza, distruzione) è sicuramente la patologia più conosciuta del cavo orale. Essa comporta una demineralizzazione dello smalto e una progressiva distruzione di dentina e cemento. A scopo esemplificativo si ricorda che, sulla base di un'ampia indagine epidemiologica condotta nel nostro Paese, a 10 anni i bambini hanno mediamente quasi 2 denti danneggiati dalla carie e in una fascia di età compresa tra 14 e 65 anni gli italiani hanno mediamente circa 13 denti danneggiati dalla carie (ovviamente la carie è una patologia che si aggrava con l'età) (v. anche: CARIE DENTALE*).

Le parodontopatie sono processi infiammatori dell'apparato di sostegno del dente e provocano danni che vanno dalla banale gengivite al riassorbimento dell'osso alveolare con successiva necessità di estrazione o caduta spontanea del dente. Per dare un'idea dell'ampiezza della problematica, gli italiani di età compresa tra 35 e 55 anni sono esenti dalla patologia in percentuali irrilevanti (inferiori al 5%), mentre dei soggetti tra 55 e 64 anni ben il 20% presenterebbe la patologia nella sua forma più grave (v. anche: PARODONDALE MALATTIA, XI, 1164; PARODONTALE MALATTIA*).





Digitized by Google

Sia la carie che le parodontopatie possono coinvolgere numerosi denti e rendere necessaria, specie nell'età avanzata, l'applicazione di apparecchi protesici.

Delle cosiddette malocclusioni o disgnazie si occupa la branca di discipline odontostomatologiche detta *ortodonzia* o meglio *ortognatodonzia* (v.). Si tratta di un gruppo di affezioni caratterizzate da malposizione dentaria. In Italia tra i soggetti di età compresa tra 0 e 14 anni la frequenza delle malocclusioni sarebbe del 62%.

Valutazioni personali (Gasparini, 1989) portano a stimare in 8460 miliardi di lire all'anno l'onere finanziario che la nostra società deve sopportare per la terapia delle malattie del cavo orale.

Le ricordate patologie del cavo orale configurano il gruppo di malattie bucco-dentali di maggiore importanza epidemiologica. Tuttavia non si può evitare di menzionare altre patologie, che, seppure meno frequenti e talora limitate, come ampiezza del fenomeno, a popolazioni con gravi carenze nutrizionali, richiedono tuttavia l'attenzione dello specialista. In tal senso val la pena ricordare: il carcinoma della mucosa buccale (sono lesioni precancerose le leucoplachie e le eritroplachie, spesso legate a comportamenti quali l'abitudine al fumo e il consumo di alcol); la gengivite ulcero-necrosante (frequente tra i bambini di comunità in condizioni socio-economiche scadenti); l'atrofia delle papille linguali; l'ipertrofia generalizzata del tessuto gengivale o delle grosse ghiandole salivari (condizioni patologiche queste che si riscontrano frequentemente tra le popolazioni in via di sviluppo e sono legate, come la gengivite ulceronecrosante, alla malnutrizione) e infine le affezioni conseguenti a cattiva tecnica di spazzolamento dei denti (abrasioni della gengiva fino a ulcerazioni o/e a eccessiva retrazione della gengiva).

Ai fini di una migliore comprensione di quanto verrà successivamente esposto vale la pena ricordare che nella bocca, ove c'è un ambiente caldo umido, si realizza un habitat particolarmente favorevole al sopravvivere e al moltiplicarsi di svariati microrganismi: si pensi che ben 200 specie di batteri sono state identificate a partire dalla saliva, dai denti e dalle gengive infiammate. Tuttavia solo alcuni rivestono una sicura importanza ai fini dell'etiopatogenesi della carie (*Streptococcus mutans* [che generando metaboliti acidi determina la decalcificazione dello smalto], lattobacilli, actinobacilli e actinomiceti); mentre l'instaurarsi delle parodontopatie dipende dall'accumularsi, a livello del solco gengivale, della placca che risulta contenere un gran numero di batteri di svariate specie oltreché di cellule dell'ospite.

Infine le malocclusioni sono causate da fattori genetici e costituzionali e da determinate abitudini viziate (succhiamento abituale della tettarella, del dito, onicofagia, respirazione orale, etc.).

**I fattori alimentari nella prevenzione della patologia odontoiatrica**

Si può affermare in modo estremamente sintetico che pur essendoci, nelle varie età, esigenze nutrizionali differenti, l'obiettivo di una buona salute del cavo orale deve prevedere una dieta variata, un opportuno apporto di calcio (latte, formaggi, carne), fosforo (pesci), Vit. D (burro, uova) e fluoro, un adatto consumo di cibi consistenti da masticare (carote, mele, lattughe, pane integrale, etc.) e la rinuncia oppure un modesto consumo di dolci ovvero la pulizia completa dei denti ogni volta che venga consumato un alimento che contenga zuccheri raffinati (caramelle, lecca lecca, cioccolatini, merendine, dolci).

È da tempo noto che un ottimale apporto dietetico di fluoro previene la carie (e l'osteoporosi). A questo proposito è utile ricordare che il contenuto dell'alogeno negli alimenti dipende dalla sua variabile presenza a livello della crosta terrestre. È interessante considerare che il fluoro è abbondante in natura (soprattutto nelle rocce di origine vulcanica, in Italia nella zona dei laghi laziali, a Napoli e nell'area dell'Etna), per quanto disomogeneamente rappresentato, e che l'acqua di mare lo contiene nella quantità di un milligrammo per litro. Detto ciò si comprende come i pesci ne siano ricchi, in particolare il pesce azzurro (l'inscatolamento rende l'elemento ancora più concentrato). Così nelle sardine se ne reperiscono circa 7 mg/kg (16 in quelle sott'olio), 3 se ne trovano nelle aringhe affumicate e ben 27 nello sgombro fresco. Altri alimenti animali ricchi in fluoro sono il fegato ed il rognone di bovini e suini. Il contenuto di fluoro degli alimenti di origine vegetale è più basso a parità di peso (e comunque dipende dalla presenza dell'elemento nel terreno), fa eccezione il tè, in cui il contenuto in fluoro può essere anche particolarmente elevato.

Nonostante il fluoro sia l'elemento che occupa il 12° posto tra i componenti della crosta terrestre, frequentemente la sua assunzione con la dieta è insufficiente. A tal fine risulta importantissimo considerare la quantità dell'alogeno nell'acqua potabile (il cui consumo non risente di abitudini, preferenze ovvero tradizioni alimentari): succede spesso nel nostro territorio nazionale (Trentino, Veneto, Liguria e in linea di massima il Nord, Umbria, Sud della Toscana, Molise, etc.) che il fluoro sia presente in quantità insufficiente o sia addirittura assente. La fluorurazione dell'acqua condottata è una procedura attuata negli U.S.A. fin dagli anni '40. Da noi nonostante esista un Decreto del Presidente del Consiglio dei Ministri del 9 marzo 1985 che prevede che i livelli di fluoro dell'acqua potabile debbano oscillare da 0,8 a 1,7 mg/l, ancora non si provvede, là ove necessario, ad aggiungere i sali dell'alogeno nell'acqua da bere.

L'integrazione dietetica di fluoruri può essere raggiunta anche addizionando i sali di fluoro ad altri alimenti come il sale da cucina (vedi al proposito l'esemplare esperienza della Svizzera, segnatamente i cantoni Vaud e Glarona) ovvero il latte. In tema di prevenzione della carie, è necessario inoltre puntualizzare che anche il consumo di zuccheri raffinati provoca, specie nel bambino, la rapida insorgenza di lesioni cariose. È opportuno che egli eviti di consumare, specie a più riprese, caramelle, cioccolato, bevande zuccherine, etc. Anche le merendine dolci sono da proscrivere (in quanto spesso anche attaccaticce); gli alimenti da privilegiare per merende e negli intervalli delle lezioni scolastiche sono: frutta fresca, focacce, tramezzini, pane, formaggio. Sarebbe anche opportuno evitare le bevande zuccherine, pur se il loro in genere rapido consumo lascia a contatto con i denti fruttoso o saccaroso per breve tempo (meglio consumare acqua minerale non zuccherata).

Vale ancora la pena ricordare che gli amidi sono molto meno cariogeni degli zuccheri a basso peso molecolare e che ricerche sperimentali segnalano l'effetto anticariogeno di alcuni aminoacidi quali la lisina, l'arginina e l'istidina (abbondantemente contenuti in alimenti quali: uova, carne e fegato). Infine anche alcuni oligoelementi quali molibdeno, vanadio, manganese, boro, stronzio e litio eserciterebbero un'attività protettiva.

Per concludere gli alimenti da privilegiare sarebbero: il pesce, il latte, le uova, la carne, il riso non brillato, i fiocchi di avena, e i farinacei ottenuti con farina integrale.

**Cenni sugli effetti delle avitaminosi**

Le vitamine (v.) sono sostanze indispensabili per l'uomo. Infatti non possono essere sintetizzate a partire da altri



Digitized by Google

composti e debbono pertanto essere introdotte necessariamente con la dieta. Se questa è sufficientemente variata permette di coprire senza difficoltà il fabbisogno giornaliero. Solo ove il problema della dieta minima sufficiente non è stato ancora superato possono verificarsi delle malattie legate a un loro insufficiente apporto. Talora un'ipovitaminosi può manifestarsi con danni al cavo orale.

Riguardo alle manifestazioni carenziali che si esprimono a livello del cavo orale si può ricordare che in corso di ariboflavinosi (mancanza di Vit. $B_2$) si possono avere una stomatite angolare con arrossamento, desquamazione e ragadi verticali e una glossite con lingua scarlatta, secca e dolente; tipica è anche una discheratosi delle labbra.

La carenza di Vit. PP configura nell'uomo un quadro clinico caratteristico, chiamato pellagra, caratterizzato dalle cosiddette tre «d»: diarrea, dermatite e demenza. Tipiche sono le lesioni a carico della bocca con infiammazione della mucosa e in particolare della lingua: si osservano infatti stomatiti e glossite, talora la lingua aumenta di volume, ma più spesso è liscia e disepitelizzata, a volte è interamente rossa, a volte è seminata di ragadi (lingua «a scacchiera»).

Il mancato o insufficiente apporto di Vit. C determina lo scorbuto, che si caratterizza con emorragie che generalmente iniziano alle gengive e alle labbra per estendersi poi, nei casi più gravi, ai visceri e ai muscoli; sicché semeiologicamente le gengive appaiono tumefatte o rosso-cianotiche.

La carenza di Vit. $B_{12}$ provoca l'anemia detta perniciosa che si associa ad un'infiammazione della lingua che appare dapprima tumefatta, arrossata, disepitelizzata (ciò che provoca senso di secchezza, di bruciore e di dolore alla masticazione dei cibi [glossite di Hunter]) e successivamente diventa lucida, pallida, levigata per atrofia delle papille.

Negli organismi debilitati (gravi stati di denutrizione, tumori, AIDS, etc.) non è infrequente osservare nel cavo orale, oltre a quelle già citate nell'introduzione, la presenza di lesioni quali afte, stomatiti, mughetto, *herpes labialis*, etc. Dette lesioni in parte sono legate ad uno stato disvitaminosico, in parte alle diminuite funzioni di difesa specifica ed aspecifica nei confronti dei microrganismi (v. anche: GLOSSITI*).

**Odontologia materna e infantile**

Per quanto ci siano delle segnalazioni che i soggetti di sesso femminile siano più frequentemente colpiti da malattie del cavo orale (carie) rispetto ai maschi, non esistono studi probanti in tal senso. È tuttavia certo che durante la *gravidanza*, da una parte la situazione ormonale della madre è tale da favorire una maggiore tendenza all'infiammazione dei tessuti gengivali e, dall'altra, la facilità al vomito che si riscontra nei primi mesi di gravidanza, abbassando il pH del cavo orale, può favorire la demineralizzazione dello smalto. È per tale motivo che può essere opportuno integrare l'apporto dietetico di fluoro da parte della futura madre. In ogni caso questa dovrà prestare particolare attenzione ad una sana alimentazione (evitare i dolci) e ad attuare una scrupolosa igiene orale. Sembra altresì opportuna, almeno a partire dal IV-V mese, l'assunzione di calcio e Vit. D (esistono appositi preparati in gocce) in quanto nella gravida il loro fabbisogno aumenta del 30%. Utile anche un abbondante apporto di Vit. C (prezzemolo, finocchio, limoni, arance) e un'equilibrata assunzione di Vit. A (carote).

Per quanto riguarda l'*odontologia infantile* sembra interessante ricordare che già il lattante può aver bisogno di un'integrazione dietetica di fluoro. Detta esigenza dipende direttamente dalla quantità di fluoro reperibile nell'acqua potabile: così, se l'alogeno è in quantità inferiore a 0,3 mg/l, è opportuno già dalla nascita e fino a 25 mesi somministrare 0,25 mg di fluoro al dì (esistono in commercio apposite compresse da aggiungere al latte), da 25 a 36 mesi è utile darne al bambino 0,5 mg e da 37 mesi fino a 12 anni 1 mg al giorno. Se nell'acqua il fluoro è presente in quantità superiore a 0,3 ma inferiore a 0,7 mg le suindicate dosi alle varie età vengono dimezzate. Ancora, la dieta del lattante andrà integrata con calcio e Vit. D. Sembra utile ribadire che è importante evitare il più possibile di somministrare al lattante alimenti zuccherini (assolutamente da proscrivere la somministrazione di zucchero con la tettarella). Ancora vale la pena ricordare che è opportuno evitare, nel limite del possibile, la tettarella e inoltre determinate abitudini viziate quali: il succhiamento del dito, la onicofagia, la respirazione orale (rimuovere le adenoidi nel caso siano queste a provocarla), etc.

**Igiene dentaria e ambiente di lavoro**

È subito necessario premettere che la prevenzione delle affezioni stomatologiche in ambiente di lavoro ha sofferto di inconvenienti e limitazioni perché diverse dovrebbero essere le discipline che se ne occupano. Da ciò dipende anche la difficoltà di esprimere l'argomento in modo sistematico e insieme sintetico. C'è tuttavia subito da puntualizzare il fatto che talvolta durante l'orario di lavoro (sempre più spesso con una breve pausa per il pasto) risulta difficile un'adeguata i. o. Infatti può risultare impossibile o problematico mantenere un'igiene accurata dei denti (per questi motivi potrebbe essere opportuno utilizzare colluttori disinfettanti che rallentano il formarsi della placca). Per quanto riguarda la patologia bucco-dentale in funzione dell'attività lavorativa c'è da dire che le cause che la provocano possono essere: fisiche (traumi, microtraumi ripetuti, le alte e basse pressioni, etc.) e chimiche (numerose sono le sostanze tossiche che possono provocare danno al cavo orale: benzolo, piombo, arsenico, fosforo, cromo, tetrabromofluoresceina, eosina, etc.). Va segnalato che determinate professioni possono accompagnarsi a cheiliti allergiche. Ciò è stato verificato per i lavoratori del tabacco, nei suonatori di flauto, di clarinetto e in coloro che usano promiscuamente (eczemi microbici) maschere o boccherule munite di filtro per la protezione da tossici industriali.

Anche le lesioni traumatiche, prodotte da causa violenta in occasione di lavoro, che interessano le parti molli del volto e quindi anche le guance e le labbra, sono abbastanza frequenti. Ciò è particolarmente vero per gli atleti che praticano «sport di contatto».

**Igiene dentaria e ambiente scolastico**

A questo livello la prevenzione odontostomatologica si basa su: *a*) l'educazione sanitaria, *b*) un'adatta alimentazione durante l'intervallo, c) una completa i. o. dopo la colazione, *d*) periodiche visite di controllo di specialisti, *e*) eventuale integrazione dell'assunzione dietetica di fluoro (fluorurazione dell'acqua della scuola, somministrazione di compresse al fluoro, somministrazione topica di fluoro).

L'educazione sanitaria nella scuola si realizza solo con la sensibilizzazione di maestri, genitori e alunni. In tutti i casi il veicolo dell'educazione deve contenere messaggi semplici e pregnanti. Dell'adatta alimentazione durante l'intervallo già si è detto; si ribadisce che debbono essere privilegiati alimenti salati e di una certa consistenza. Riguardo alla completa i. o. dopo lo spuntino è opportuno che il bambino disponga di uno spazzolino idoneo e sappia che per eseguire un corretto spazzolamento sono necessari almeno 2 min di tempo. A questo proposito si osserva che l'intervallo





Digitized by Google

è solitamente troppo breve affinché l'alunno ovvero lo studente possano compiere nel modo giusto l'alimentazione, la pulizia dei denti e eventuali altre necessità (sarebbe opportuno un intervallo di almeno 30 min).

Un apporto integrativo di fluoro, là ove necessario, può essere ottenuto con la fluorurazione dell'acqua della scuola, tenendo presente che, poiché il bambino sta a scuola per circa 5 h al dì, sarebbe opportuno che nell'acqua il fluoro fosse a livelli attorno ai 2,3-6,3 mg/l. Tale tipo di esperienza ha permesso negli U.S.A. di ridurre del 39% la carie negli scolari.

Un ulteriore apporto del prezioso alogeno può essere garantito mediante l'applicazione locale del fluoro (solitamente fluoruro di sodio o, meglio, di fluoruro di stagno, in soluzioni leggermente acide). Per far ciò è necessario dotare ogni alunno di vaschette personali, in quanto le soluzioni devono stare a contatto con la superficie pulita dei denti per almeno 5 min. Esperienze in tal senso, condotte negli U.S.A., hanno dimostrato che si può ridurre la frequenza della carie del 28-40%.

Altro importante momento preventivo in età scolare è quello che riguarda le malocclusioni o disgnazie: infatti un tempestivo intervento durante l'età evolutiva, specie se si riesce a ottenere la collaborazione del bambino, permette di risolvere, talora in pochi mesi, gravi situazioni di malposizione dentale.

**Profilassi delle principali malattie della bocca e dei denti**

Già nei precedenti paragrafi si è accennato alla prevenzione delle malattie del cavo orale. A completamento di quanto detto e per meglio puntualizzare il problema si ricorda che i punti fondamentali di detta profilassi sono: *a*) un'adeguata educazione sanitaria; *b*) un equilibrato apporto di fluoro; *c*) una corretta igiene alimentare; *d*) un'accurata i. o.; *e*) l'uso di mezzi o sostanze che ostacolano lo sviluppo ovvero il metabolismo batterico; *f*) l'approntamento di un vaccino anticarie; *g*) l'esecuzione di visite odontoiatriche periodiche e precoci. Per quanto riguarda l'apporto dietetico di fluoro si precisa che è possibile somministrarlo sia per via generale che per via locale. Per quanto concerne l'eventuale apporto topico di fluoro si consiglia l'uso settimanale di gelatina al fluoro che deve essere posizionata sui denti dopo accurata pulizia degli stessi e deve restare in posto per almeno 5 min. Come già ricordato, mediante opportune vaschette, possono essere usate anche soluzioni di fluoro. A quest'ultimo proposito l'applicazione, dopo pulizia dei denti, dovrebbe essere fatta almeno una volta alle seguenti età: 3, 7, 10 e 13 anni.

Riguardo al problema dell'i. o. sembra opportuno ribadire che la frequenza e la tempestività (dopo il consumo di alimenti dolci), così come il lavaggio dei denti prima del riposo notturno hanno molta importanza. Ancora, si ricorda l'importanza dell'uso di spazzolini idonei in quanto a potere abrasivo delle setole e usura (in genere uno spazzolino non dura più di 2-3 mesi). Anche le dimensioni dello spazzolino sono importanti, così per i soggetti da 2 a 12 anni si consiglia uno spazzolino piccolo con 3 file di setole e con lunghezza della guarnizione delle setole non superiore ai 25 mm, mentre a partire da 12 anni è utile uno spazzolino di grandezza media con 4 file di setole e con una lunghezza della guarnizione delle setole da 25 a 32 mm. Vale la pena anche sottolineare che sono preferibili le setole sintetiche, perché più elastiche e resistenti, oltreché più igieniche: infatti nelle setole naturali, dopo breve utilizzo, possono accumularsi numerosi batteri. L'uso dello spazzolino elettrico è indicato per i bambini e per gli handicappati (aiutati da adulti). È importante rammentare che il movimento di spazzolamento sulle superfici esterne dei denti deve essere verticale o rotatorio.

L'uso del dentifricio al fluoro è utile, sia perché permette un apporto locale (peraltro limitato) di fluoro sulla superficie dei denti, sia perché, specie i bambini, ingoiando un po' di dentifricio, integrano in tal modo l'apporto dietetico dell'alogeno. Sembra ancora interessante ricordare che lo spazzolino da denti, anche se usato bene, non pulisce le superfici di contatto tra dente e dente e per questo motivo è consigliabile l'uso del filo interdentale, pur se ne risulta talora difficile l'applicazione. Recentemente è stata studiata anche la rotella dentale che elimina residui di cibo, massaggia le gengive e rivitalizza i vasi sanguigni. Ancora vale la pena di ricordare lo spazzolino a doppia serie orientabile di setole.

È opportuno sottolineare che la prevenzione delle parodontopatie (indicate anche con il termine di *piorrea*) prevede l'asportazione totale della placca; fatto che non sempre è possibile realizzare nonostante uno spazzolamento frequente e corretto. Ciò è tanto più vero quanto più esistano condizioni che facilitano la ritenzione della placca (corone ovvero otturazioni debordanti, presenza di apparecchi ortodontici, etc.); in questi casi è utile l'uso delle pastiglie rivelatrici di placca (che peraltro sono importanti anche per favorire un più completo spazzolamento dentale). Allo scopo di rimuovere meglio detta placca può essere utile l'uso degli scovolini interdentali (limitatamente ai casi di presenza di apparecchi correttivi) e dell'idropulsore (si raccomanda in proposito di indirizzare il getto d'acqua tangenzialmente e non perpendicolarmente al solco gengivale).

L'insorgenza della carie può essere ostacolata dall'uso di resine particolarmente resistenti che vengono chiamate sigillanti e che si applicano soprattutto sui solchi dentali.

Inoltre allo scopo di ridurre la moltiplicazione batterica si può far uso di collutori (ad es. a base di clorexidina) e sono stati proposti, per quanto poi non accettati, diversi antibiotici quali: kanamicina, vancomicina, etc.

Ancora, per la prevenzione della carie sono state sperimentate sostanze ad azione enzimatica (destranasi, viakasi) che, inibendo la formazione di metaboliti batterici che favoriscono l'acidificazione, impediscano la demineralizzazione dello smalto; detti enzimi talora sono mal tollerati.

Frequentemente, infine, si trovano in commercio dolciumi o *chewing gum* senza zucchero, i quali tuttavia possono contenere altri glicidi che i batteri della placca trasformano rapidamente in acidi. Solo quelli che, sulla base di attente e controllate esperienze cliniche, non portano a una riduzione di pH della saliva sotto 5,7 ricevono la denominazione di «salvadenti», in quanto succedanei innocui (ai fini del potere cariogeno) delle normali gomme da masticare o dolciumi.

L'ipotesi di approntare un vaccino contro la carie risale agli anni '30 e si basa sull'osservazione, successivamente meglio documentata dal punto di vista sperimentale, che lo *Streptococcus mutans* svolge un ruolo di primaria importanza nell'iniziare e nell'aggravare il processo carioso.

Sperimentazioni sul modello animale ed umano, così come gli studi approfonditi sulle caratteristiche antigeniche del microrganismo, rendono la prospettiva di un vaccino anticarie sicuramente reale. Al fine di evitare alcuni effetti collaterali sono allo studio vaccini costituiti solo da determinati antigeni (ottenuti mediante tecniche di ingegneria genetica) che sembrerebbero evocare una risposta immunitaria ipoteticamente protettiva, e vaccini per uso orale (esistono a tal proposito ricerche molto promettenti).



Digitized by Google

**L'educazione sanitaria della popolazione in tema di salute dentale**

Obiettivo dell'educazione sanitaria è di creare una consapevolezza collettiva di un problema medico epidemiologicamente rilevante. Per ciò che riguarda la salute dentale e del cavo orale le figure educative sono: l'odontoiatra, il medico (in particolare il pediatra), il farmacista, il maestro elementare. L'educazione può essere portata a livello singolo, di gruppo ovvero della popolazione. Riguardo a quest'ultimo aspetto grande importanza hanno i *mass-media* (radio, televisione, etc.). Il messaggio educativo deve essere breve, di facile comprensione, completo, penetrante e in proiezione positiva (ad es. è più utile mostrare denti sani piuttosto che denti cariati). I contenuti del messaggio debbono riguardare i mezzi di prevenzione che si hanno a disposizione e in particolare: le tecniche e i mezzi per l'i. o., l'utilità di un corretto apporto di fluoro, l'importanza di una dieta opportuna, la necessità di visite dentistiche periodiche, l'importanza di evitare abitudini voluttuarie (fumo e alcol).

In Svizzera e nei Paesi Scandinavi l'educazione sanitaria, specie a livello scolastico, ha permesso di ridurre drasticamente la patologia del cavo orale. A questo proposito esperienze da noi condotte in Italia hanno evidenziato che, solitamente, i bambini hanno scadenti condizioni di i. o., che buoni risultati si ottengono a breve termine mediante la educazione sanitaria nelle scuole elementari, ma che detto tipo di educazione va ripetuto almeno 2 volte nell'arco di un anno. Comunque ogni intervento di educazione sanitaria dovrebbe essere seguito da una verifica a breve, medio e lungo termine allo scopo di stabilirne la frequenza.

L'educazione sanitaria nelle scuole può essere rivolta ai bambini, ai loro genitori e ai maestri (che a loro volta si trasformano in educatori). Allo scopo si possono usare: manualetti, pannografie, diapositive, film, videocassette, etc. Molto utili sono anche le dimostrazioni con un «modellone» per spiegare la corretta tecnica di spazzolamento. Alla dimostrazione dovrebbe seguire il lavaggio dei denti in classe da parte di tutti gli alunni, ai quali eventualmente regalare uno spazzolino (congruo circa le misure), un dentifricio al fluoro, uno specchietto ricurvo ed eventualmente le pastiglie rivelatrici di placca.

**L'odontoiatra come possibile mediatore nella trasmissione delle malattie**

In ambito odontoiatrico sono parecchie le malattie che possono essere trasmesse dal paziente all'odontoiatra, dall'odontoiatra al paziente e da paziente a paziente tramite lo strumentario. A scopo esemplificativo se ne menzionano alcune: infezioni da stafilo- e streptococchi (angina), meningite, tubercolosi, malattie respiratorie (rinite, influenza, polmonite), *herpes labialis*, varicella, morbillo, rosolia, parotite, mononucleosi, candidosi, epatite virale, sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS), etc. Nella maggior parte dei casi, tuttavia, il rischio è più potenziale che reale: così la maggior parte degli odontoiatri risulta immune per le patologie tipiche dell'infanzia quali: morbillo, rosolia e parotite epidemica e inoltre i virus che ne sono responsabili sono assai poco resistenti agli agenti naturali e artificiali della disinfezione. Anche per quanto riguarda le malattie sostenute da herpesvirus (*herpes labialis*, varicella, mononucleosi infettiva) si sottolinea la scarsa resistenza di questi patogeni all'ambiente esterno e ad alcuni disinfettanti.

Per la prevenzione della trasmissione del virus della epatite B e del virus dell'immunodeficienza umana (HIV = *Human Immunodeficiency Virus*), in uno studio dentistico vanno applicate tutte quelle misure organizzative, di sanificazione, disinfezione, sterilizzazione e asepsi intese a evitare il contagio. Le misure di prevenzione che debbono essere adottate possono essere così riassunte: *a*) anamnesi del paziente (lasciare per ultimi i portatori di virus dell'epatite B ovvero i soggetti sospetti di essere sieropositivi per anticorpi anti-HIV); *b*) igiene personale con particolare riguardo al lavaggio e alla disinfezione delle mani prima di ogni prestazione; *c*) uso di mezzi di protezione (guanti [cambiarli da un paziente all'altro e comunque in tutti i casi in cui si rompano o si buchino], maschere, occhiali di protezione, camici o grembiali a perdere); *d*) precauzioni per ridurre il rischio di contagio durante gli interventi (sciacquo del cavo orale del paziente con soluzioni disinfettanti, uso della diga di gomma per isolare il campo di lavoro, cura meticolosa nel maneggiare aghi e taglienti, utilizzo limitato del trapano ad alta velocità e comunque uso di sistemi di aspirazione per ridurre gli aerosol); *e*) igiene dello studio (lavaggio e disinfezione almeno giornalieri di pavimenti, superfici di lavoro, maniglie, etc.), copertura mediante plastica delle superfici più esposte agli schizzi di sangue e saliva, strofinamento con spugna imbevuta di disinfettante delle superfici contaminate e non altrimenti disinfettabili ovvero sterilizzabili, opportune cautele riguardo al sistema di erogazione dell'acqua del riunito, etc.); *f*) opportuna preparazione dello strumentario (sistemi di lavaggio, detersione, disinfezione e sterilizzazione); *g*) organizzazione dell'attività (predisporre opportunamente lo studio [meglio se si possono utilizzare 2 riuniti, mentre su uno l'odontoiatra lavora, sull'altro si procede a operazioni di pulizia e disinfezione], studiare i percorsi orizzontali, predisporre alla fine della giornata un'accurata pulizia e disinfezione dello studio e preparare i vari *set* di strumenti sterili necessari per il giorno successivo).

**Bibliografia**


*Atti del Convegno Nazionale di Epidemiologia e Odontoiatria di Comunità*, 1986, Interstampa, Roma.

*Atti del Seminario Nazionale di Studio sulla Fluoroprofilassi*, 1985, Ferraldeschi Ellera, Perugia.

Bergese F., *Dentista Moderno*, 1987, **1**, 119-140.

Dolci G., Strohmenger L., *Prospettive in Pediatria*, 1989, **19**, 89-94.

Gasparini R., Pozzi T., Pozzi G. *et al.*, *Atti della Seduta Scientifica a tema libero della Sez. Toscana della Società Italiana di Igiene*, 1989, Pistolesi, Siena, pp. 3-8.

Messina G., *Fed. Med.*, 1983, **36**, 889-891.

Tollaro I., Antonini A., *Prospettive in Pediatria*, 1989, **19**, 105-111.

U. S. Dept. of Health and Human Services/Public Health Service, *MMWR*, 1986, **35**, 237-242.

Vannini A., Pozzi T., Quartesan E., Mugnaini L., Gasparini R., *Atti della Seduta Scientifica a tema libero della Sez. Toscana della Società Italiana di Igiene*, 1989, Pistolesi, Siena, pp. 16-19.


ROBERTO GASPARINI

## ORGANOSPECIFICI E NON-ORGANOSPECIFICI AUTOANTICORPI [v. vol. X, col. 1878]

SOMMARIO



**Autoanticorpi naturali e autoimmunità fisiologica**

Nel settore dell'autoimmunità, una distinzione fondamentale di cui occorre costantemente tener conto è, come noto,

quella tra «autoriconoscimento», «risposta autoimmunitaria» e «malattia autoimmune» (v. MALATTIE AUTOIMMUNI, IX, 151). Tale concezione appare attualmente sostenuta non solo da dati relativi all'esistenza, nell'uomo e nell'animale sani, di linfociti T e B autoreattivi, ma anche da analoghe osservazioni relative agli autoanticorpi. Recenti ricerche hanno infatti permesso di documentare, nel siero normale umano, di ratto e di topo, la presenza di autoanticorpi capaci di reagire con un'ampia varietà di autoantigeni, ivi inclusi il DNA, la tireoglobulina, l'actina, la miosina, la mioglobina, la spectrina, la proteina basica della mielina, il collagene e le proteine dello sperma. Tali *autoanticorpi naturali*, che rappresentano, nel loro complesso, una quota sostanziale delle normali immunoglobuline sieriche, appartengono prevalentemente all'isotipo IgM, sono presenti nel siero a titoli bassi (di solito non rilevabili con le tecniche convenzionali), sono per lo più polispecifici (cioè reagiscono con due o più autoantigeni diversi) ed hanno nella maggior parte dei casi idiotipi crossreattivi o ricorrenti.

L'affinità «intrinseca» degli autoanticorpi naturali, cioè la loro affinità per un definito epitopo espresso da una macromolecola, è inferiore a quella degli autoanticorpi indotti da immunizzazione attiva. Ciò potrebbe rappresentare la causa della loro non patogenicità: in altri termini, nell'ambito di ciascuna famiglia di autoanticorpi specifici per una definita molecola, soltanto pochi sarebbero in grado di riconoscere, probabilmente per caso, epitopi biologicamente importanti, dando così luogo ad alterazioni funzionali o a citolisi.

Il significato degli autoanticorpi naturali è tuttora incerto: essi potrebbero infatti rappresentare i precursori dei classici anticorpi indotti dagli agenti esogeni, ovvero essere un fisiologico mezzo di rimozione di macromolecole *self* non digerite. D'altro canto, essi potrebbero anche non avere alcun finalismo e costituire soltanto i marcatori sierologici di riarrangiamenti genici o mutazioni casuali.

Indipendentemente da ciò, l'esistenza degli autoanticorpi naturali induce a considerare l'autoimmunità sotto due distinti aspetti: un'*autoimmunità fisiologica*, presente nei soggetti normali durante l'intero arco della vita e forse non priva di un certo ruolo protettivo o di avvio della differenziazione B-cellulare; ed un'*autoimmunità patologica*, multifattoriale, nel corso della quale vengono prodotte quantità abnormi di autoanticorpi, prevalentemente IgG, dotati di effetto patogeno diretto o indiretto. Per la verità, il moderno concetto di autoimmunità fisiologica poggia, oltre che sull'esistenza di autoanticorpi naturali, anche su altri e più complessi fenomeni, fra cui le reciproche interazioni fra idiotipo e anti-idiotipo (che sono alla base dell'*immunoregolazione idiotipica*) e il riconoscimento da parte delle cellule T di molecole *self* codificate dal sistema maggiore di istocompatibilità ed espresse sulle superfici cellulari (v. HLA*). Sulla base di tali elementi si ritiene attualmente, con limitato margine di dubbio, che tutti gli individui costituiscano una sorta di «portatori sani di autoimmunità». Tale stato di portatore sano sarebbe fisiologicamente mantenuto, per tutta la vita, ad opera di una serie di meccanismi di *controautoimmunità*, innescati dagli stessi linfociti T autoreattivi (attivazione di cellule T-soppressorie specifiche) o dagli stessi autoanticorpi (induzione di autoanticorpi anti-idiotipo dotati di effetto regolatorio).

**Autoanticorpi e autoantigeni**

*Autoepitopi*

Nella concezione classica dell'autoimmunità, gli autoantigeni sono stati spesso assimilati, dal punto di vista delle proprietà immunogene, a sostanze chimiche «semplici», cioè dotate di un singolo determinante antigenico o *epitopo*. La realtà, naturalmente, è molto più complessa, poiché ogni macromolecola (auto)antigenica possiede un numero variabile di strutture potenzialmente immunogene, anche se di norma soltanto alcune di esse sembrano effettivamente in grado di evocare una risposta (auto)immunitaria e, in particolare, una produzione di specifici (auto)anticorpi. Appare pertanto necessario riconsiderare le malattie autoimmuni sotto il profilo delle strutture molecolari (*autoepitopi*) verso cui sono specificamente rivolti gli anticorpi patogeni che in tali malattie si rinvengono.

Le implicazioni clinico-patogenetiche di tale moderno orientamento sono rilevanti. Ad es., il recettore umano per il TSH, che è stato recentemente clonato, contiene un epitopo «caldo», compreso tra gli aminoacidi 350-400, verosimilmente responsabile dell'induzione di anticorpi tireostimolanti, e altre sequenze probabilmente implicate nell'induzione di anticorpi di tipo «bloccante» (TBIAb).

A prescindere da tali implicazioni cliniche, lo studio e la caratterizzazione degli autoepitopi (resi possibili soprattutto dall'impiego, ormai largamente diffuso, di anticorpi monoclonali rigorosamente monospecifici) consente oggi di considerare sotto una nuova luce, con riferimento ai meccanismi di formazione degli autoanticorpi, il vecchio concetto di «crossreattività». Si è infatti compreso che la somiglianza antigenica fra sostanze esogene, soprattutto di origine microrganismica, e costituenti tessutali umani (somiglianza modernamente indicata come *molecular mimicry*) non implica necessariamente, come in passato si era propensi a credere, un'ampia, e quindi improbabile, analogia strutturale di due macromolecole, ma può semplicemente dipendere da omologie di piccole regioni epitopiche, talora costituite da pochissimi residui aminoacidici situati in posizioni chiave (cosiddetti *epitopi caldi*). Ciò permette di spiegare perché siano così numerosi i casi di mimetismo molecolare fra proteine umane e proteine esogene (in particolare di agenti infettivi quali batteri, protozoi, miceti e virus), con le conseguenze autoimmunitarie che ciò spesso comporta.

*Autoantigeni di natura enzimatica*

Com'è stato da tempo prospettato, nelle malattie autoimmuni organospecifiche la formazione di autoanticorpi dotati di potere patogeno potrebbe rappresentare la conseguenza di «lesioni primarie» d'organo indotte da agenti esogeni (ad es. virus o altri microrganismi) o da altri fattori non ancora identificati. Negli ultimi anni è emerso che tali lesioni primarie potrebbero assai spesso implicare alterazioni di sistemi enzimatici cellulari. È infatti oggi noto che molti antigeni organospecifici sono costituiti da enzimi: ad es., l'antigene microsomale delle cellule tiroidee è una perossidasi; l'antigene delle cellule parietali gastriche è l'enzima acido-producente ($H^+$, $K^+$)-adenosintrifosfatasi; l'antigene verso cui sono rivolti gli anticorpi anti-mitocondri (anti-$M_2$) nella cirrosi biliare primitiva è la piruvato deidrogenasi; gli anticorpi anti-mitocondri (anti-$M_7$) riscontrabili nei soggetti con miocardite acuta e in un terzo circa dei pazienti con cardiomiopatia dilatativa sono rivolti verso la sarcosina-deidrogenasi; l'antigene di 64 kd delle cellule pancreatiche β-insulari è stato recentemente identificato con la glutammico-decarbossilasi, enzima che appare anche responsabile, secondo alcune ricerche, della formazione di anticorpi specifici nella *stiff-man syndrome*, una rara affezione neurologica contrassegnata da rigidità muscolari diffuse.

Autoantigeni di natura enzimatica sono stati individuati



Digitized by Google

anche in alcune malattie autoimmuni di tipo non-organospecifico. È questo il caso della polimiosite e degli enzimi muscolari alanil-tRNA-sintetasi e istidil-tRNA-sintetasi, specificamente reattivi, questi ultimi, con gli autoanticorpi indicati come anti-Jo-1. Non è pertanto chiaro se gli autoantigeni enzimatici della polimiosite possano essere assimilati, dal punto di vista del ruolo patogenetico, a quelli delle malattie organospecifiche sopra menzionate.

**Origine degli autoanticorpi**

*Sottopopolazione B-cellulare deputata alla produzione degli autoanticorpi*

Nell'uomo e in varie specie animali è presente, nel sangue periferico e negli organi linfoidi, una sottopopolazione di cellule B autoreattive pari, in condizioni fisiologiche, allo 0,4% del totale. Nei soggetti con malattie autoimmuni tale *subset* cellulare ascende al 2% e si mostra capace di secernere spontaneamente autoanticorpi rivolti contro specifici autoantigeni (ad es., anticorpi antitiroidei nei pazienti con tireopatie autoimmuni, anticorpi anti-DNA o anti-$U_1$-RNP in quelli con connettiviti sistemiche). Questi dati sembrano indicare che gli autoanticorpi, analogamente agli allo- e agli isoanticorpi, vengono prodotti da una linea cellulare B i cui progenitori risiedono essenzialmente a livello midollare e splenico e i cui discendenti si ritrovano a livello di milza, linfonodi, placche di Peyer, sangue periferico, etc.

In alcuni ceppi di topi, tuttavia, è stata identificata un'altra linea linfocitaria coinvolta nella produzione degli autoanticorpi. Questa seconda linea cellulare, i cui progenitori si trovano non già nel midollo osseo, bensì nel peritoneo, è caratterizzata dalla simultanea presenza di marcatori di membrana sia delle cellule B che delle cellule T. In particolare essa è contrassegnata sia dall'antigene Ly1 (marcatore T), sia da elevati livelli di IgM di membrana, associati a bassi livelli di IgD e a concentrazioni intermedie di Ia (marcatori B). Questa ristretta sottopopolazione cellulare, denominata $Ly1^+$-B, viene prodotta precocemente nell'ontogenesi e persiste, quale stipite autorinnovantesi e Ig-secernente, per tutta la vita. La possibilità che le cellule $Ly1^+$-B svolgano un importante ruolo nella produzione degli autoanticorpi è suggerita: *a*) dalla loro aumentata concentrazione nei ceppi murini geneticamente predisposti allo sviluppo di malattie autoimmuni (ibridi $F_1$ NZB/NZW); *b*) dalla loro assenza nei topi di ceppo CBA/N, che sono naturalmente refrattari alla formazione di autoanticorpi; *c*) dalla loro capacità di produrre spontaneamente, *in vitro*, anticorpi anti-DNA e anti-emazie.

La controparte nell'uomo delle cellule murine $Ly1^+$-B non è stata identificata con sicurezza assoluta. Appare tuttavia probabile che essa coincida con la sottopopolazione di cellule B con fenotipo $CD5^+$ (cellule B Leu-$1^+$) che risulta responsabile, secondo recenti ricerche, della produzione di vari autoanticorpi non-organospecifici, fra cui fattore reumatoide, anti-sDNA e anti-cardiolipina. La percentuale delle cellule B $CD5^+$ è aumentata in varie malattie autoimmuni, soprattutto artrite reumatoide, sindrome di Sjögren e tireopatie autoimmuni. Gli autoanticorpi prodotti dalle cellule B $CD5^+$ sono prevalentemente IgM, polireattivi (cioè capaci di riconoscere molteplici antigeni) e dotati di bassa affinità; assimilabili, quindi, agli autoanticorpi «naturali» non patogeni. Nei soggetti con artrite reumatoide, tuttavia, le cellule B $CD5^+$ producono anche fattori reumatoidi monoreattivi (cioè capaci di reagire soltanto con epitopi del frammento Fc delle IgG) e ad alta affinità, e nei soggetti con sindrome di Sjögren (v. SJÖGREN, SINDROME DI*) sembra esistere una buona correlazione tra percentuale di cellule B $CD5^+$ e attività della malattia.

È interessante infine ricordare che le cellule B $CD5^+$ rappresentano il clone neoplastico dei soggetti con leucemia linfatica cronica a cellule B, ed è stato dimostrato che questi soggetti hanno tracce di autoanticorpi: questo rilievo costituisce un esempio di interrelazione tra autoimmunità e disordini linfoproliferativi.

*Autoanticorpi e ricorrenza idiotipica*

È recentemente emerso che gli autoanticorpi rivolti verso un definito autoantigene, anche se prodotti da individui diversi (appartenenti alla stessa specie o a specie differenti), esprimono molto frequentemente particolari idiotipi che sono stati denominati «ricorrenti» o «pubblici» o «crossreattivi».

Il significato della *ricorrenza idiotipica* nell'autoimmunità è tuttora incerto. Una delle più accreditate ipotesi formulate per spiegare il fenomeno prevede che solo un limitato numero delle famiglie geniche che codificano per il *domain* variabile delle immunoglobuline ($V_H/V_L$) intervenga nella formazione degli autoanticorpi. In altri termini, il gruppo di geni che codifica per la regione V delle immunoglobuline sarebbe di ristretta eterogeneità anche tra individui geneticamente non correlati. Tali geni sarebbero stati preservati durante l'evoluzione perché le immunoglobuline da essi codificate farebbero parte del repertorio anticorpale normale. In effetti, sembra che il repertorio anticorpale preimmune sia prevalentemente orientato verso l'autoreattività e che gli autoanticorpi presenti in tale repertorio costituiscano i precursori dei normali anticorpi rivolti verso gli antigeni esogeni. Esisterebbe, in altri termini, un'importante connessione tra auto- ed eteroanticorpi. In questo senso depongono del resto varie altre osservazioni: *a*) le paraproteine della macroglobulinemia di Waldenström e del mieloma multiplo possono essere dotate di una reattività anticorpale duplice, cioè rivolta sia verso autoantigeni sia verso antigeni esogeni. Tale duplice reattività può essere considerata come l'espressione di differenti stadi di differenziazione di un clone B-cellulare stimolato da un antigene esogeno; *b*) è possibile che la mutazione di un gene V che codifica per un anticorpo rivolto verso un antigene esogeno possa creare un autoanticorpo dotato di autoreattività; *c*) alcuni esperimenti *in vitro* mostrano che la sostituzione di un singolo aminoacido della regione variabile della catena pesante di un anticorpo rivolto verso un antigene batterico fa sì che l'anticorpo perda la sua attività antibatterica e acquisisca, per contro, una reattività autoanticorpale anti-DNA o anti-cardiolipina. Appare in conclusione possibile che mutazioni somatiche anche minime possano trasformare una risposta anticorpale da «vantaggiosa» in «svantaggiosa» (o viceversa).

*Autoanticorpi e anomalie nel network idiotipico*

Si ritiene attualmente che la formazione degli autoanticorpi possa essere in alcuni casi innescata o facilitata da anomalie dell'immunoregolazione idiotipica e che queste possano anche spiegare alcuni dei meccanismi molecolari con cui gli autoanticorpi esercitano i loro effetti patogeni.

Nella sua formulazione più semplice, la teoria della *rete idiotipica* (o del *network idiotipico*) proposta da Jerne nel 1974 prevede che ogni molecola anticorpale (anticorpo I o $Ac_1$) sintetizzata da una cellula B (che verrà convenzionalmente chiamata $B_1$), oltre ad avere un sito di riconoscimento dell'antigene, esprima, nella sua regione variabile, determinanti antigenici indicati come *determinanti idiotipici* o, semplicemente, *idiotipi* (Id), che si comportano a loro volta da immunogeni. Una seconda cellula B ($B_2$) produrrà quindi anticorpi ($Ac_2$) rivolti verso gli idiotipi dell'$Ac_1$ (anticorpi anti-Id). Tali anti-Id possono, a seconda delle circostanze, potenziare o sopprimere il clone cellulare $B_1$ Id-positivo. L'anticorpo $Ac_2$ possiede anch'esso, sul sito combinatorio, determinanti idiotipici che suscitano la formazione di $Ac_3$ (anti-anti-Id) da parte di cloni $B_3$ e così via. Questa fisiologica reattività anti-*self* ($Ac_2$ è un autoanticorpo rivolto verso l'idiotipo di $Ac_1$, $Ac_3$ verso l'idiotipo di $Ac_2$, etc.) è basata su un delicato equilibrio dinamico tra Id e anti-Id, le cui perturbazioni possono portare ad una condizione di autoimmunità patologica (fig. 1).

Sono qui di seguito esposti alcuni dei meccanismi attraverso cui varie anomalie dell'immunoregolazione idiotipica





Digitized by Google

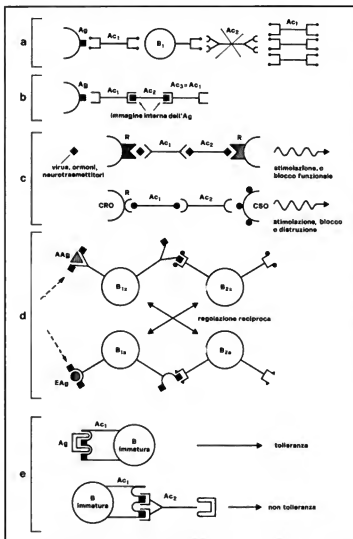



Fig. 1. Possibili modalità attraverso cui anomalie del *network* idiotipico possono condurre alla formazione di autoanticorpi. *a*) Deficit di soppressione idiotipica: la produzione di autoanticorpi ($Ac_1$) da parte di un clone B ($B_1$) non viene inibita a causa di un deficit di produzione di anticorpi anti-Id ($Ac_2$). *b*) L'anticorpo anti-Id ($Ac_2$) può riprodurre l'immagine interna dell'autoantigene, amplificando così la risposta autoimmunitaria specifica. *c*) Un anticorpo ($Ac_2$) rivolto verso l'idiotipo di un anticorpo ($Ac_1$) diretto contro virus, ormoni o neurotrasmettitori può comportarsi da autoanticorpo anti-recettore. Alternativamente, anticorpi rivolti verso recettori per ormoni espressi alla superficie di un determinato tipo cellulare (CRO o cellula con recettori per ormoni, ad es. epatociti) possono indurre la formazione di anti-Id ($Ac_2$) capaci di reagire con la cellula secernente l'ormone (CSO). *d*) Anticorpi rivolti verso antigeni esogeni (EAg) e verso autoantigeni (AAg) possono avere idiotipi comuni (*frecce tratteggiate*) e ciò dà luogo all'espansione di due cloni B (indicati nella fig. con $B_{2a}$ e $B_{2a}$) i quali, pur decorrendo parallelamente, possono attivarsi a vicenda (*frecce incrociate*). *e*) L'anticorpo anti-Id ($Ac_2$) può stabilire un legame a bassa affinità con l'Id di un anticorpo ($Ac_1$) espresso sulla superficie di una cellula B immatura, inibendo in tal modo il legame ad alta affinità tra la cellula stessa ed il rispettivo antigene e la conseguente induzione di uno stato di tolleranza immunologica specifica.

potrebbero condurre alla formazione di autoanticorpi di significato patologico.

1. *Deficit di soppressione idiotipica* (fig. 1, *a*). – È questo il meccanismo da più lungo tempo ipotizzato (v. ORGANOSPECIFICI E NON-ORGANOSPECIFICI AUTOANTICORPI, X, 1878) per spiegare come alterazioni dell'omeostasi idiotipica possano indurre una produzione di autoanticorpi. Secondo questo modello, alcuni cloni cellulari B autoreattivi, che recano sulla membrana gli idiotipi degli autoanticorpi ($Ac_1$) che verranno sintetizzati ed immessi in circolo, non sarebbero adeguatamente soppressi, negli individui con malattie autoimmuni, per una difettosa capacità di produzione di anticorpi anti-idiotipo ($Ac_2$) da parte di un altro clone B. In effetti, nel LES umano e in quello murino è stata rilevata una correlazione inversa tra gravità della malattia e presenza di anticorpi rivolti contro l'idiotipo degli autoanticorpi anti-DNA. Inoltre, è stato dimostrato che gli anticorpi anti-F(ab')$_2$ documentabili nei pazienti affetti da LES



Digitized by Google

in fase di remissione clinica hanno, sia *in vivo* che *in vitro*, un'attività funzionale anti-Id e causano quindi una depressione della sintesi di autoanticorpi anti-DNA.

2. *Amplificazione dell'immagine strutturale degli autoantigeni* (fig. 1, *b*). – Poiché gli anticorpi $Ac_1$ indotti da antigeni esogeni presentano, nella regione variabile del loro sito di combinazione, un'*immagine interna negativa* dell'antigene verso cui sono rivolti, alcuni degli anticorpi $Ac_2$ (essendo diretti contro tale idiotipo) recano nel proprio sito di combinazione, un'*immagine interna positiva* dell'originale antigene esogeno. Pertanto essi ripetono, più o meno fedelmente, la configurazione molecolare di tale antigene e ne condividono, in varia misura, le proprietà strutturali e funzionali. In tal modo, un anticorpo $Ac_2$ rivolto verso lo idiotipo di un autoanticorpo $Ac_1$ specifico per un certo autoantigene potrà sostituirsi o sommarsi a quest'ultimo nell'indurre o nel mantenere una risposta autoimmunitaria.

3. *Anticorpi anti-idiotipo come autoanticorpi anti-recettore* (fig. 1, *c*). – Come noto, numerose cellule di vari organi e tessuti esprimono, sulla loro superficie, molecole aventi la funzione di recettori per ormoni (come l'insulina e il TSH) o neurotrasmettitori (come l'acetilcolina e le catecolamine). Analogamente, lo spiccato «tropismo» che molti virus mostrano nei confronti di particolari tipi cellulari risulta dovuto alla presenza, sulla membrana delle cellule bersaglio, di recettori virus-specifici. D'altro canto, alcuni virus si servono, per penetrare all'interno della cellula, dei recettori per i normali ligandi dell'ospite. Ad es., il virus della rabbia e altri virus neurotropi sembrano utilizzare il recettore per l'acetilcolina (ACh-R), il virus di Epstein-Barr; il recettore per il complemento (C3-R) presente sulle cellule B, i reovirus; il recettore β-adrenergico, etc.

Sulla base di queste osservazioni è stato prospettato che gli autoanticorpi o, almeno, gli autoanticorpi anti-recettore altro non siano se non anticorpi $Ac_2$ rivolti contro l'idiotipo di normali anticorpi protettivi diretti contro virus. Tali $Ac_2$ potrebbero mimare il ligando nella struttura conformazionale e sostituirsi ad esso nell'occupare gli specifici recettori cellulari. Potrebbe così aversi la riproduzione degli effetti funzionali del ligando naturale o, viceversa, un effetto di blocco recettoriale. L'effettiva rilevanza che i meccanismi molecolari sopra menzionati rivestono in patologia umana deve essere ancora valutata. Appare comunque possibile che in alcune forme di diabete mellito insulino-resistente, nel morbo di Basedow e nella miastenia grave gli anticorpi anti-idiotipo ad attività antirecettoriale svolgano un ruolo, se non esclusivo, almeno accessorio. Sarebbe anche interessante verificare se un meccanismo analogo sia in gioco nella sindrome da immunodeficienza acquisita: in effetti, poiché il virus responsabile dell'affezione (HIV) utilizza come specifico recettore l'antigene linfocitario $T_4$, appare ipotizzabile che autoanticorpi rivolti verso l'idiotipo degli anticorpi anti-HIV possano reagire con il recettore stesso. A ciò potrebbero conseguire eventi citolesivi che contribuirebbero alla caratteristica diminuzione delle cellule T-*helper* che si osserva nell'AIDS e nelle sindromi correlate.

4. *Altri meccanismi*. – Data la grande varietà del repertorio autoimmune, è possibile che due anticorpi prodotti da due distinti cloni B-cellulari e capaci di riconoscere differenti antigeni condividano, pur avendo siti combinatori diversi, un idiotipo comune. In tale situazione, designata come *crossreattività idiotipica* (fig. 1, *d*), può accadere che anticorpi anti-idiotipo evocati da anticorpi rivolti contro antigeni esogeni interagiscano con, e in alcuni casi stimolino, un clone B-cellulare produttore di autoanticorpi, dando così innesco a una condizione di autoimmunità.

È stato dimostrato che le cellule B immature diventano tolleranti (cioè incapaci di dare una risposta anticorpale specifica) allorché i loro recettori immunoglobulinici di superficie stabiliscono un legame ad alta affinità con l'antigene. Nella condizione indicata come *inibizione anti-idiotipica della tolleranza* (fig. 1, *e*), può accadere che anticorpi rivolti verso l'idiotipo di anticorpi indotti da comuni eteroantigeni stabiliscano un legame crossreattivo (a bassa affinità intrinseca) con gli idiotipi espressi da cellule B immature, inibendo in tal modo il loro fisiologico contatto con l'autoantigene e la conseguente induzione del normale stato di autotolleranza.

**Autoanticorpi e classificazione delle malattie autoimmuni**

Classicamente, le malattie autoimmuni vengono distinte, a seconda degli organi e dei sistemi interessati, in forme *organospecifiche*, *non-organospecifiche* e *intermedie*. Tale inquadramento, illustrato sotto la voce MALATTIE AUTOIMMUNI (IX, 151), per quanto ancora largamente accettato, non appare esente da critiche, soprattutto per quanto riguarda la collocazione delle cosiddette forme intermedie e dei casi di sovrapposizione (*overlaps*) di manifestazioni cliniche e sieroimmunologiche (autoanticorpi). In realtà, la classificazione ideale dovrebbe unificare gli autoanticorpi e le malattie autoimmuni sulla base delle «parentele immunologiche» tra i rispettivi autoantigeni ovvero tra i rispettivi difetti dell'immunoregolazione. In attesa di maggiori conoscenze in questi settori, appare attualmente utile una *classificazione patogenetica* delle malattie autoimmuni, cioè una classificazione basata sui meccanismi con cui le risposte immunitarie e, in particolare, gli autoanticorpi causano una lesione organica o un'alterazione funzionale degli organi bersaglio. Da questo punto di vista le affezioni autoimmunitarie possono essere suddivise in tre gruppi principali (tabb. I, II e III).

*Gruppo I*

In questo gruppo (tab. I) sono comprese le *malattie correlate ad autoanticorpi citotossici in presenza di complemento, a citotossicità anticorpo-mediata (ADCC) e/o all'effetto di linfociti T citolitici autoaggressivi*.

In alcune di queste malattie, la risposta autoimmunitaria conduce ad una lenta e progressiva distruzione degli organi o delle strutture bersaglio, sino all'atrofia (ad es., endocrinopatie e gastropatie autoimmuni); in altre l'autoaggressione induce manifestazioni cliniche a rapida insorgenza (ad es., anemie emolitiche autoimmuni e sindrome di Goodpasture). Nel primo caso sono in gioco, in varia combinazione, immunoreazioni patogene (v.; VII, 1639) di tipo II (anticorpi citolitici in presenza di complemento), di tipo IV (ipersensibilità cellulo-mediata indotta da linfociti T) e di tipo VI (citotossicità linfocitaria anticorpo-dipendente o ADCC [*Antibody-Dependent Cell-Citotoxicity*], in cui gli anticorpi mediano un'azione citotossica delle cellule K). Nel secondo caso si ha il pressoché esclusivo intervento di immunoreazioni patogene del II tipo (ad es., agglutinine, emolisine e autoanticorpi crossreattivi rivolti contro epitopi comuni alle membrane basali renali e polmonari).

*Gruppo II*

Questo raggruppamento (tab. II) comprende le *malattie da anticorpi anti-recettore* (o *anti-R*).

Il concetto di *autoimmunità antirecettoriale* si è sviluppato a partire dagli anni '70, quando è divenuto progressivamente chiaro che le molecole recettoriali presenti sulla membrana di numerose cellule e destinate allo specifico riconoscimento di ormoni e neurotrasmettitori prodotti e rilasciati da altre cellule, limitrofe o distanti, possono divenire bersaglio di un'aggressione autoimmunitaria essenzialmente mediata da autoanticorpi circolanti. Il legame dell'autoanticorpo con il recettore cellulare può produrre effetti funzionali simili a quelli del ligando naturale ed indurre,





Digitized by Google

**TAB. I. PRINCIPALI MALATTIE AUTOIMMUNI. GRUPPO I**

| Malattie | Autoantigeni verso cui sono rivolti gli autoanticorpi | Principali tecniche di rilevazione degli autoanticorpi |
|---|---|---|
| Tiroidite di Hashimoto e mixedema primario | Ag microsomale/microvillare (perossidasi tiroidea)<br>Tireoglobulina<br>Secondo Ag colloideo | EA, IF, IE<br>EA, IF, RIA, IE<br>IF |
| Gastrite del fondo (tipo A) | Ag microsomale delle cellule parietali ([$H^+$, $K^+$]-adenosintrifosfatasi)<br>Differente Ag di membrana? | IF, IE |
| Gastrite dell'antro (tipo B) | Citoplasma di cellule antrali | IF |
| Anemia perniciosa | Fattore intrinseco | RIA, IE |
| Morbo di Addison | Ag microsomale delle cellule corticosurrenaliche | IF |
| Ipoparatiroidismo primario | Ag citoplasmatico delle cellule ossifile | IF |
| Diabete tipo I (alcuni casi) | Ag citoplasmatici e di superficie delle cellule β-insulari<br>Ag citoplasmatici di cellule α e di cellule a somatostatina | IF<br>IF |
| Insufficienza gonadica prematura, alcuni casi | Ag citoplasmatico delle cellule interstiziali e del corpo luteo | IF |
| Infertilità maschile, alcuni casi | Ag dello sperma | A, Immobilizzazione, altre |
| Deficit parziali pituitarici, alcuni casi | Ag citoplasmatici delle cellule secernenti prolattina o ormone della crescita; altri tipi cellulari? | IF |
| Sindromi poliendocrine autoimmuni | Ag citoplasmatici di cellule endocrine | IF |
| Vitiligine | Ag di superficie dei melanociti | IF |
| Diarrea protratta dell'infanzia, alcuni casi | Ag citoplasmatici degli enterociti immaturi | IF |
| Pemfigo | Ag di membrana dei cheratinociti e sostanza intercellulare | IF |
| Pemfigoide bolloso | Membrana basale di cute e mucose | IF |
| Epatite cronica autoimmune | Proteina fegato-specifica (LSP)<br>Antigene di membrana (LMA)<br>Altri neoantigeni di membrana? | IF |
| Cirrosi biliare primitiva | Mitocondri | IF |
| Anemie emolitiche autoimmuni | Rh-associati<br>I o i-associati<br>P-associati | Test di Coombs |
| Leucopenie (linfopenie) autoimmuni | Ag HLA-associati; Ag «i»; Ag «propri» del LES; Ag crossreattivi | IF, A, altre |
| Trombocitopenia autoimmune | *Platelet-associated antigens?* glicoproteine IIb e/o IIIa | IF, A, altre |
| Mielopatie autoimmuni | Determinanti allotipici, $\beta_2$-microglobulina e altri su cellule staminali mieloidi, eritroblasti e/o loro precursori, cellule progenitrici mieloidi, megacariociti | Varie, indaginose |
| Sindrome di Goodpasture | Ag crossreattivi di membrane basali polmonari e glomerulari | IF |
| Sclerosi multipla | Proteina basica della mielina | Varie |

IF, immunofluorescenza; EA, emoagglutinazione; A, agglutinazione; IE, tecniche immunoenzimatiche; RIA, tecniche radioimmunologiche.

ad es., una stimolazione della struttura bersaglio (*autoanticorpi anti-R di tipo stimolatorio*, immunoreazione patogena di tipo V), ovvero causare la distruzione o comunque un blocco funzionale del recettore stesso (*autoanticorpi anti-R di tipo bloccante*, immunoreazione patogena di tipo VII).

Il primo e più classico esempio di autoimmunità antirecettoriale di tipo stimolatorio, come noto, è costituito dal morbo di Basedow, nel quale furono già nel 1956 identificati autoanticorpi circolanti (LATS) in grado di stimolare la funzione della tiroide. È oggi ampiamente documentato che gli anticorpi tireostimolanti presenti nel siero dei pazienti basedowiani (TSAb) riconoscono specificamente i recettori per il TSH presenti sulla membrana dei tireociti e, interagendo con questi, inducono un'attivazione funzionale della ghiandola del tutto simile a quella causata dal TSH stesso. È interessante notare che esiste, nei soggetti basedowiani, ma anche in una parte dei portatori di gozzo sem-



Digitized by Google

**TAB. II. PRINCIPALI MALATTIE AUTOIMMUNI. GRUPPO II**

| Malattie | Autoantigeni verso cui sono rivolti gli autoanticorpi | Principali tecniche di rilevazione degli autoanticorpi |
|---|---|---|
| A) *Malattie da anticorpi anti-R ad effetto «stimolatorio»* | | |
| Morbo di Basedow, ipertiroidismo (da TSAb) | R-TSH | Competizione radiorecettoriale; *bioassay* biologico |
| Gozzo nodulare non-tossico, 40% dei casi; gozzo nel morbo di Basedow e nella tiroidite di Hashimoto (da TGI) | R-TSH? | *Bioassay* citochimico; incorporazione di $^3$H-timidina in follicoli tiroidei di ratto ricostituiti *in vitro* |
| Morbo di Cushing | R-ACTH | Complesse, riservate alla ricerca |
| Ulcera duodenale? | $H_2$-R? | Complesse |
| Severe crisi ipoglicemiche | R-insulina | Complesse |
| B) *Malattie da anticorpi anti-R ad effetto «bloccante»* | | |
| Miastenia grave; miastenia neonatale; sindrome di Eaton-Lambert? | R-acetilcolina | Immunoprecipitazione |
| Diabete insulino-resistente associato ad *acanthosis nigricans*, a sclerodermia o ad atassia-teleangectasia | R-insulina | Competizione radiorecettoriale |
| Gastrite tipo A | R-gastrina | Complesse |
| Insufficienza renale, casi particolari | R-paratormone | Complesse |
| Rinite e/o asma, 3-5% dei casi | R-$\beta_2$-adrenergici | Complesse |
| Insufficienza gonadica precoce | R-gonadotropina | Complesse |
| Morbo di Addison | R-ACTH | Complesse |
| Mixedema primario e tiroidite atrofica autoimmune (da TBIAb) | R-TSH? (inibizione della crescita o del ripristino di follicoli tiroidei) | Complesse |

TSAb, anticorpi tireostimolanti; TGI, *Thyroid Growth Immunoglobulins*; TBIAb, *TSH-Binding Inhibiting Antibodies*.

plice, una seconda varietà di autoanticorpi tireostimolanti, diretta verso un diverso epitopo del recettore del TSH e capace di indurre non tanto un'iperattività funzionale dei tireociti, quanto piuttosto un aumento del loro ritmo di crescita. A tali autoanticorpi è stata attribuita la denominazione di TGI (*Thyroid Growth Immunoglobulins*).

Altri possibili esempi di immunità antirecettoriale di tipo stimolatorio (di grande interesse concettuale, ma non ancora sufficientemente dimostrati) riguardano gli autoanticorpi rivolti verso il recettore per l'ACTH delle cellule corticosurrenaliche (riscontrati in alcune forme di morbo di Cushing) e gli autoanticorpi diretti contro i recettori istaminici $H_2$ delle cellule parietali gastriche (dimostrati in alcuni pazienti con ulcera duodenale).

Le malattie autoimmuni nelle quali può considerarsi meglio documentato l'intervento patogenetico di autoanticorpi anti-recettore di tipo bloccante sono la miastenia grave (nella quale gli anti-R sierici sono rivolti contro il recettore nicotinico dell'acetilcolina situato sul versante postsinaptico della giunzione neuromuscolare [ACh-R]) e una particolare forma di diabete mellito associata ad *acanthosis nigricans* e caratterizzata da un'insulinoresistenza assai marcata (gli autoanticorpi anti-R circolanti sono in questo caso diretti contro i recettori cellulari per l'insulina [I-R]). Occorre peraltro precisare che gli autoanticorpi antirecettoriali di tipo «bloccante», diversamente da quanto suggerisce la loro denominazione, non necessariamente esplicano i loro effetti occupando materialmente il sito di combinazione per il ligando presente sulla molecola recettoriale. Sono infatti possibili, e parzialmente documentati, vari altri meccanismi d'azione, come ad es., nel caso della miastenia, distruzione delle pieghe giunzionali della placca nuromotoria, induzione di giunzioni postsinaptiche immature, ridotta sintesi degli ACh-R, aggregazione delle molecole recettoriali (in caso di anticorpi bivalenti) con conseguente accelerazione del loro fisiologico catabolismo (che avviene per endocitosi e digestione enzimatica).

Tra gli altri autoanticorpi anti-R, meritano di essere ricordati, anche se attualmente si ritengono di scarso significato patogenetico, quelli rivolti verso i β-recettori adrenergici polmonari, che si rinvengono nel siero di una piccola frazione (3-5%) dei pazienti affetti da rinite e/o asma bronchiale. Va infine segnalato che, accanto ad autoanticorpi anti-R a esclusivo effetto stimolatorio o bloccante, esistono probabilmente molecole anticorpali dotate, a seconda dei frangenti fisiologici e dei differenti epitopi recettoriali con cui di volta in volta interagiscono, di proprietà sia mimetiche che inibitorie (*anticorpi anti-R di tipo misto*).

Nata da pochi anni, la patologia da anticorpi anti-recettori appare destinata ad acquisire sempre maggior rilievo. Sin da oggi si prospetta la possibilità che ad essa possano essere correlate non solo altre affezioni organiche, come la sclerosi multipla (anticorpi rivolti contro il recettore per la serotonina?), ma anche alcune malattie psichiatriche (è stato, ad es., ipotizzato che anticorpi stimolanti rivolti contro i recettori della dopamina possano svolgere un ruolo nella patogenesi della schizofrenia).

### *Gruppo III*

Questo terzo gruppo (tab. III) raccoglie le *connettiviti sistemiche e alcune vasculiti correlate, in varia misura, alla formazione di complessi autoantigene-autoanticorpo.*



Digitized by Google

**TAB. III. PRINCIPALI MALATTIE AUTOIMMUNI. GRUPPO III**

| Malattie | Autoantigeni verso cui sono rivolti gli autoanticorpi | Principali tecniche di rilevazione degli autoanticorpi |
|---|---|---|
| Lupus eritematoso sistemico (LES) | *Ag nucleari*<br>Nuclei *in toto*<br>DNA a doppia elica (ds DNA)<br>DNA a singola elica (ssDNA)<br>Istoni (H1, H2A, H2B, H3, H4)<br>$U_1$-RNP<br>SS-A (Ro)*<br>SS-B (La, Ha)<br>Sm<br>Ma<br>PCNA (Ag nucleari di cellule proliferanti) | IF, EA, ID, RIA, IE, altre |
| | *Lupus-Associated Membrane Protein* (LAMP) espressa sulla superficie di vari tipi cellulari (differente o crossreattiva con il dsDNA?) | *Immunoblotting* |
| | *Altri*: eritrociti, linfociti, piastrine, fosfolipidi, etc. (crossreattivi?) | Molteplici |
| Artrite reumatoide | IgG, frammento Fc<br>RANA (*Rheumatoid-Associated Nuclear Antigen*) | Latex-A; W-R, EA<br>IF su linee linfoblastoidi infettate con EBV |
| | Ag nucleari granulocitospecifici | IF su granulociti |
| | Nuclei *in toto* | IF su tessuti o cellule Hep2 |
| | Granuli cheratoialini | IF su cellule di desquamazione della mucosa orale |
| Dermatomiosite-polimiosite | Nuclei *in toto*<br>Istidil-tRNA sintetasi (Jo-1)*<br>Treonil-tRNA sintetasi (PL-7)<br>Alanil-tRNA sintetasi (PL-12)<br>$PM_1$<br>Ku<br>$Mi_1$, $Mi_2$ | IF<br>Complesse |
| Connettivite mista (entità autonoma?) e altre sindromi da sovrapposizione | Nuclei *in toto*;<br>nRNP | IF<br>ID, altre |

V. note e simboli della tab. I.
* Gli antigeni SS-A(Ro) e Jo-1 possono essere sia nucleari che citoplasmatici.

Nelle affezioni di questo genere, il comune denominatore patogenetico è rappresentato da una risposta autoanticorpale rivolta verso autoantigeni ubiquitari (cioè non-organospecifici) e, in modo particolare, verso uno o più componenti dell'ampia «famiglia» degli antigeni nucleari. Le lesioni tessutali sono essenzialmente secondarie alla formazione di immunocomplessi costituiti da autoantigeni e autoanticorpi (immunoreazione patogena di tipo III), con l'eventuale concorso di altri meccanismi.

Nel lupus eritematoso sistemico (LES), paradigmatico di questa categoria di affezioni, gli immunocomplessi circolanti, così come quelli dimostrabili in vari organi e tessuti, risultano in larga misura costituiti da DNA e autoanticorpi anti-DNA. Per quanto riguarda, in particolare, gli immunocomplessi presenti a livello renale, si ritiene comunemente che essi derivino dalla deposizione di immunocomplessi circolanti «intrappolati» nelle anse glomerulari. In alternativa a questa interpretazione classica, si ipotizza attualmente che tali complessi possano formarsi *in situ*, per selettiva fissazione del DNA alle membrane basali glomerulari e successiva cattura di autoanticorpi anti-DNA liberi nel siero. Alla formazione degli immunocomplessi segue l'attivazione a catena dei componenti del complemento e, probabilmente, la liberazione di linfochine da parte di linfociti T sensibilizzati e il reclutamento di altri tipi cellulari. È stato ipotizzato che nel LES la lesività degli immunocomplessi dipenda anche da una loro difettosa clearance, a sua volta secondaria a deficit del sistema monocitario/macrofagico o di recettori (CR1) per le componenti C3b e iC3b del complemento della superficie delle emazie (v. LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO*). Immunocomplessi patogeni potrebbero essere formati, nel LES, anche dagli autoanticorpi anti-LAMP (*Lupus-Associated Membrane Protein*), crossreagenti con il DNA a doppia elica e dotati anche di un effetto citotossico complemento-mediato (immunoreazione patogena di tipo II).

Forse ancora più articolato è il caso dell'artrite reumatoide, in cui l'effetto patogeno degli immunocomplessi sintetizzati a livello della sinovia (IgM anti-IgG, autoassociazione IgG/IgG ed altri ancora) si affianca, secondo le interpretazioni più recenti, a fenomeni flogistici sinoviali da ipersensibilità cellulomediata (immunoreazione patogena di tipo IV). Meccanismi di lesione combinati (da immunocomplessi e da ipersensibilità cellulare) intervengono probabilmente anche nella patogenesi della connettivite mista, della sindrome di Sjögren e della dermatomiosite-polimiosite. In quest'ultima condizione morbosa sono anche presenti autoanticorpi rivolti verso diversi *transfer*-RNA, il cui significato patogenetico appare ancora incerto. A parte va probabilmente considerata la

sclerodermia, in cui gli immunocomplessi, ad eccezione delle fasi iniziali della malattia, si rinvengono incostantemente e non mostrano una chiara correlazione con il quadro clinico.

**Bibliografia**


Bottazzo G. F., Todd I., Mirakian R. *et al.*, *Immunol. Rev.*, 1986, **94**, 137.
Bruck C., Co M. S., Slaoui M. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1986, **83**, 6578.
Cooke A., Lydyard P. M., Roitt I. M., *Lancet*, 1984, **2**, 723.
Erlanger B. F., Cleveland W. L., Wassermann N. H. *et al.*, *Immunol. Rev.*, 1986, **94**, 23.
Golding H., *J. Clin. Invest.*, 1989, **83**, 1430.
Klein R., *Clin. Exp. Immunol.*, 1990, **82**, 289.
Mackay I. R., Frazer I. H., McNeilage L. J., Whittingham S., *Auto-epitopes and autoimmune diseases*, in Schwarz R. S., Rose N. R., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1986, **475**, 59.
Masala C., *Autoimmunità e malattie autoimmuni*, in Dammacco F., *Immunologia in medicina*, 1989, Edi-Ermes, Milano, p. 621.
Masala C., Amendolea M. A., Di Prima M. A. *et al.*, *Infezioni e autoimmunità*, in *Immunologia e allergologia clinica, Atti della XXXVI Settimana degli Ospedali*, 1991, ESI Stampa Medica, Milano, p. 167.
Mathews M. B., Bernstein R. M., *Nature*, 1983, **304**, 177.
Mouritsen S., *Scand. J. Immunol.*, 1986, **24**, 485.
Oldstone M. B. A., *Cell*, 1987, **50**, 819.
Plotz P. H., *Lancet*, 1983, **2**, 824.
Scharff M. D., De Pinho R. A., Behar S. *et al.*, *Cell Immunol.*, 1986, **99**, 29.
Schattner A., Rager-Zisman B., *Rev. Infect. Dis.*, 1990, **12**, 204.
Shoenfeld Y., Isenberg D., *The mosaic of autoimmunity: factors associated with autoimmune condition*, 1989, Elsevier, New York.
Silvestris F., Williams R. C. jr., Frassanito M. A., Dammacco F., *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 1987, **42**, 50.


CESARE MASALA, MARIA ANTONIETTA AMENDOLEA E FABRIZIO TOCCACELI

## ORNITINA DECARBOSSILASI

F. *ornithine decarboxylase*. - I. *ornithine decarboxylase*. - T. *Ornithindekarboxylase*. - S. *ornitina decarboxylasa*.

### Definizione e introduzione

Enzima che catalizza il distacco di un gruppo carbossilico dalla molecola dell'ornitina, aminoacido diaminomonocarbossilico, chimicamente indicato come ac. alfa-delta-diaminovalerianico. È una carbossiliasi (EC 4.1.1.17) appartenente alla classe delle liasi (IUB, 1984) enzimi che rimuovono, all'interno della molecola, determinati gruppi funzionali a livello di legami differenti, a seconda delle sottoclassi (v. ENZIMI, V, 2239).

Nel processo di decarbossilazione l'aminoacido si lega al piridossalfosfato, che agisce da coenzima, con la formazione intermedia di due basi di Schiff (un'aldimina ed una chetimina) risultando anidride carbonica, il coenzima che può essere riutilizzato e la liberazione del prodotto terminale, un'amina.

Le prime decarbossilasi ad essere studiate furono quelle batteriche, ma ne esistono anche a livello tessutale; le prime hanno un *optimum* di attività *in vitro* ad un pH tra 4 e 5 e producono amine che possono risultare tossiche; talune invece sono molto utili.

L'ornitina è un aminoacido riscontrabile in piccole quantità nel sangue, ma non si ritrova nei prodotti di idrolisi delle proteine; è quindi prodotta per sintesi biologica. Appartiene alla classe degli aminoacidi a 5 atomi di carbonio, è prodotta nel ciclo di formazione dell'urea dall'arginina o ac. alfa-amino-delta-ureidovalerianico per azione della arginasi (EC 3.5.3.1), che libera ornitina + urea, e dalla prolina o ac. pirrolidin-2-carbossilico attraverso due prodotti intermedi, rappresentati dall'ac. pirrolidin-carbonico e dalla semialdeide glutammica, molto importanti nei processi di interconversione tra aminoacidi a 5 atomi di carbonio. Viene sintetizzata da alcuni ceppi di *Torulopsis* a partire da ac. acetico e glicocolla e da quasi tutti i ceppi di *Escherichia coli* (tranne gli *ornithine less*), che trasformano l'ac. N-acetilglutammico in ornitina. Può essere sintetizzata all'interno delle cellule dalla suddetta arginasi.

La demolizione metabolica dell'ornitina può seguire la via generale degli aminoacidi a mezzo delle aminotransferasi (Tietz, 1986), quella della deaminazione ossidativa a livello dell'atomo di carbonio alfa o delta; essa può inoltre sfuggire al ciclo di formazione dell'urea per delta transaminazione (Blom *et al.*, 1985). Per azione dell'ornitina decarbossilasi prodotta dai batteri intestinali, l'ornitina presente nelle cellule della mucosa viene decarbossilata a putrescina o tetrametilendiamina. Dalla putrescina derivano la spermidina (monoaminopropilputrescina) e la spermina (diaminopropilputrescina), tutte incluse nella classe delle poliamine.

I metodi di valutazione delle decarbossilasi possono essere basati sulla determinazione manometrica dell'anidride carbonica prodotta, o sul riconoscimento cromatografico delle amine specifiche o, come in batteriologia, estraendo queste ultime con cloroformio e facendole reagire con la ninidrina (reazione di Carlquist) (Koneman, 1987). Attualmente è possibile determinare l'attività dell'ornitina decarbossilasi della mucosa intestinale, prelevata biopticamente nel corso di endoscopia o di intervento chirurgico, con i metodi di Beaven *et al.* (1978) e di Luk *et al.* (1982) basati sulla valutazione radiochimica dell'anidride carbonica proveniente dal carbossile aminoacidico marcato con $^{14}C$.

### Ruolo e importanza biologica

L'importanza dell'ornitina decarbossilasi nella fisiopatologia umana risiede nel fatto che questo enzima, agendo sull'ornitina cellulare la trasforma, progressivamente e con l'intervento di altri enzimi e di altri substrati, in putrescina, spermidina e spermina. Questi ultimi tre composti sono indispensabili per la proliferazione, la maturazione e la differenziazione funzionale (specializzazione) di tutte le cellule dell'organismo. La prova della specificità di questa attività dell'enzima sul substrato ornitina è fornita in natura dai casi, rari ma sicuramente dimostrati, di iperornitinemia dovuta a deficit di ornitina decarbossilasi (Tietz, 1986).

L'ornitina decarbossilasi è presente in quantità molto scarsa e con attività ridotta nelle cellule in stato di riposo. La sua attività però può aumentare entro poche ore a seguito di stimolazioni trofiche relative ad ormoni, farmaci, fattori di crescita, necessità di rigenerazione tessutale (Moorehead *et al.*, 1987). Questi stessi stimoli agiscono pure e prontamente sugli enzimi che catalizzano la formazione di spermidina e spermina (sintetasi specifiche).

L'ornitina decarbossilasi ha un'emivita inferiore all'ora, mediamente a seconda delle cellule, caratteristica che consente rapide modificazioni dell'attività. Essa può essere indotta e modulata dalla proliferazione cellulare; in talune condizioni è presente un inibitore fisiologico che ne regola l'attività.

L'ornitina decarbossilasi è inibita competitivamente dall'alfa-metilornitina, dall'idrazinornitina, ma soprattutto dalla difluorometilornitina che riduce la sintesi *in vivo* della putrescina in maniera significativa e specifica (Pegg *et al.*, 1982). L'azione di questi inibitori indica la derivazione della putrescina dall'ornitina proprio con il blocco della sintesi delle tre poliamine. Esistono alcune linee cellulari di animali che sono ornitina decarbossilasi-negative e che richiedono per la crescita l'apporto esterno di putrescina (Steglich *et al.*, 1981).

All'inizio della divisione si riscontrano grossi aumenti nella riserva di ornitina all'interno della cellula. Le esigenze di proliferazione modulano l'attività dell'ornitina decarbossilasi per cui comincia la sintesi delle poliamine. Putrescina, spermidina e spermina aumentano progressivamente come il ciclo cellulare passa dalla fase $G_1$ alla S (sintesi del DNA), alla $G_2$ ed alla mitosi (v. CITOMETRIA A FLUSSO*). L'ordine suddetto riflette il ciclo di biosintesi (Heby *et al.*, 1982).

Un tessuto attivamente proliferante, con rapido ricambio cellulare, come quello della mucosa intestinale, è particolarmente adatto per comprendere l'azione della ornitina decarbossilasi e l'importanza delle poliamine nella crescita delle cellule (Luk *et al.*, 1983). La mucosa intestinale, come tutti i tessuti labili, contiene una sezione superficiale attiva ed una sezione sottostante di riserva con cellule meno differenziate morfologicamente e funzionalmente. In condizioni normali esiste equilibrio quantitativo tra produzione di elementi maturi e loro scomparsa; esiste, in altri termini, un processo di ricambio con fasi di proliferazione maturativa delle cellule di riserva che via via acquistano attitudini funzionali complete (Bologna *et al.*, 1991). Dal punto di vista biometabolico tutto ciò è legato all'attività dell'ornitina decarbossilasi chiamata a far scattare le sintesi delle poliamine; ma tutto ciò si verifica anche in risposta di adattamento dopo resezione intestinale e nel processo di guarigione dopo insulti tossici (Luk *et al.*, 1983). La risposta enzimatica in tutte queste situazioni è pronta ed interviene nella fase molto precoce di tutta la funzione metabolica.

Queste conoscenze sull'ornitina decarbossilasi e sulle poliamine, sull'importanza della loro attività sul processo di proliferazione cellulare e i risultati di recenti studi sugli stadi preneoplastici di molti organi, tra cui il colon e il retto, hanno fatto sorgere la domanda se esista correlazione tra tali condizioni di rischio e l'attività dell'enzima. Attualmente si è d'accordo sul fatto che un'espansione della proliferazione cellulare a livello della regione basale dell'epitelio definita «compartimento proliferativo» sia uno dei primi segni istopatologici delle condizioni predisponenti al cancro. In uno stato iperproliferativo la cellula può facilmente andare incontro a difetti di maturazione e, continuando in maniera anormale la sintesi di DNA, non essere in grado di concludere il processo di differenziazione terminale. Si manifestano pertanto modificazioni di struttura e di espressione di oncogeni (*c-myc*, *ras*, *Ha-ras*), risposte alterate ai fattori di crescita e alle cause chimiche o di altra natura che promuovono il cancro (Lipkin, 1987; 1988).

Nella mucosa del colon degli individui affetti da poliposi familiare del colon o appartenenti a famiglie che presentano tale malattia, è stata dimostrata espansione del compartimento proliferativo. Gli individui in questione, se non trattati, sono esposti al rischio di sviluppare un cancro del colon prima e più frequentemente degli individui esenti. Ebbene i valori dell'attività dell'ornitina decarbossilasi nella mucosa del colon di questi individui sono aumentati in maniera statisticamente significativa, indicando lo stato di iperproliferazione nella poliposi familiare e consentendo altresì di individuare, tra i membri della famiglia, i portatori sani (Luk *et al.*, 1984). Per quanto riguarda gli adenomi e gli adenocarcinomi, si è accertato che essi si sviluppano in una mucosa che presenta le alterazioni proliferative e maturative suddette, cioè si innestano su quello che è stato definito un «difetto di campo» (Winawer *et al.*, 1991).

Ma talvolta (Moorehead *et al.*, 1987) si riscontrano diminuzioni, anziché aumenti, dell'attività dell'ornitina decarbossilasi, probabilmente conseguenza delle tecniche di prelievo del materiale o di effetti inibitori retrogradi legati alla dinamica biologica ed ai rapporti tra poliamine, in particolare putrescina, e l'enzima principale del loro metabolismo, l'ornitina decarbossilasi.

**Bibliografia**


Beaven M. A., Wilcox G., Terpstra G. K., *Analitycal Biochemistry*, 1978, **84**, 638-641.
Blom W., Huijmans J., *Science Tools*, 1985, **32**, 19.
Bologna M., Biordi L., Martinotti S., *Caleidoscopio. Gli oncogeni*, 1991, n. 63, Medical System Ed., p. 21.
Heby O. L. *et al.*, *J. Cell Physiol.*, 1982, **86**, 511-522.
IUB, *Enzyme Nomenclature 1984*, 1984, Academic Press, Inc., Orlando.
Koneman E. W., *Testo atlante di microbiologia diagnostica*, 1987, Antonio Delfino, Roma, pp. 87-88; 120.
Lipkin M., *Gastroenterology*, 1987, **92**, 1083-6.
Lipkin M., *Cancer Res.*, 1988, **48**, 235-245.
Luk G. D., Marton L. J., Baylin S. B., *Science*, 1982, **216**, 75-77.
Luk G. D., Baylin S. B., *Am. J. Physiol.*, 1983, 245 (Gastrointest. Liver Physiol. 8) G 656-660.
Luk G. D., Baylin S. B., *N. Engl. J. Med.*, 1984, **311**, 80-83.
Moorehead R. J., Hoper M., Mc Kelvey S. T., *Br. J. Surg.*, 1987, **74**, 364.
Pegg A. E., McCann P. P., *Am. J. Physiol.*, 1982, 243 (Cell Physiol.) **2**, 212-221.
Steglich C., Scheffler I. E., *J. Biol. Chem.*, 1981, **257**, 4603-4609.
Tietz N. W., *Textbook of Clinical Chemistry*, 1986, Saunders W. B. Company, p. 530.
Winawer S. J., Zauber A. G., Stewart E., O'Brien M. J., *Cancer*, 1991, **67**, 1143-1149.


GASTONE BONITO

## OSSESSIVO-COMPULSIVA NEVROSI

*Sin.*: disturbo ossessivo-compulsivo (DOC).

F. *névrose obsessionnelle*. - I. *obsessive-compulsive neurosis*. - T. *Zwangsneurose*. - S. *trastorno obsesivo-compulsivo*.

SOMMARIO



### Definizione e classificazione

Il disturbo ossessivo-compulsivo (DOC), o nevrosi ossessivo-compulsiva, è una malattia psichiatrica cronica e invalidante.

Ossessione deriva dal latino *obsidere*, assediare; compulsione dal latino *compulsus sum*, sono forzato. Le *ossessioni* sono pensieri o impulsi non voluti e ripetitivi; le *compulsioni* sono atti ripetitivi, gesti rituali, diretti a produrre o a prevenire qualcosa che viene ad essi magicamente collegato, in particolare un danno provocato o subito.

Ossessioni e compulsioni sono accompagnate da un sentimento soggettivo di coazione e, spesso, dal desiderio simultaneo di opporsi, di resistere. Desiderio in genere sopraffatto.

Pensieri, impulsi e gesti hanno un carattere intrusivo, interferiscono con le capacità di concentrazione e tendono a invadere sempre di più la vita quotidiana di chi ne soffre. I pensieri più comuni riguardano lo sporco, il contagio, il timore di far male agli altri o a se stessi. La maggior parte dei comportamenti compulsivi può essere ricondotta alle due categorie generali del controllo (*checking*) o della pulizia (*cleaning*).

Per quanto riguarda le grandi classificazioni nosografiche, il DSM-III-R (American Psychiatric Association, 1987) inserisce il DOC (300.30) fra i «disturbi d'ansia»; l'ICD-10 (World Health Organization, *draft* 1990) lo classifica fra i «disturbi nevrotici» (F42).

### Cenni storici

Nel *Malleus Maleficarum* (XV sec.) viene descritto un giovane uomo che ogni volta che tentava di pregare era assalito dall'impulso irresistibile di tirar fuori la lingua e di gridare oscenità. Le *Traité des scrupules* di Du Guet risale al 1717. La psichiatria francese vanta una importante tradizione di studi sulle ossessioni.

La prima descrizione medica di un disturbo ossessivo-compulsivo è generalmente attribuita a Esquirol (1838), nel quadro delle *monomanies affectives ou raisonnantes*: M.lle F., commerciante ricoverata a Charenton, era affetta dal

Digitized by Google

timore continuo di commettere errori nei conti a proprio vantaggio; F. eseguiva, inoltre, interminabili rituali di verifica con ispezioni minuziose degli abiti e del corpo dirette a eliminare il dubbio di essersi appropriata, senza accorgersene, di qualche oggetto di valore.

Il primo uso del termine viene fatto risalire a Morel (1866) mentre la prima grande opera psichiatrica dedicata a questa sindrome è certamente il trattato in due volumi di Janet, *Les obsessions et la psychasthénie* (1903).

Janet non separa le ossessioni dalle fobie. È Freud a introdurre la distinzione nosografica tra fobie, ossessioni e isteria, tuttora seguita. Il saggio di S. Freud, *Osservazioni su un caso di nevrosi ossessiva* (1909), più conosciuto come caso clinico dell'*Uomo dei topi*, contiene una descrizione dettagliata della struttura di questo disturbo secondo il modello psicoanalitico. Il tema è ripreso in molti lavori successivi. Freud insiste sull'importanza, nella patogenesi della nevrosi ossessiva, dell'*ambivalenza* amore-odio, dell'uso a scopo difensivo dell'*isolamento* degli affetti dalle rappresentazioni e, infine, dell'*onnipotenza del pensiero*: il paziente tratta i suoi pensieri come se fossero eventi oggettivi e non prodotti soggettivi della mente sviluppando varie forme di *pensiero magico*. Proprio i caratteri magico-onnipotenti del pensiero ossessivo portarono Freud a riconoscere le affinità tra questa nevrosi e i tabù delle società primitive, i rituali, le pratiche religiose.

**Epidemiologia**

Parecchi studi avevano fatto credere che il disturbo ossessivo-compulsivo fosse raro, ma indagini recenti su campioni di popolazione generale suggeriscono che sia due volte più frequente della schizofrenia (2-3%, sulla vita intera) (Beech, 1974; Cottraux, 1989; Rachman, Hodgson, 1980; Shear, Frosch, 1985).

Il tasso di concordanza in gemelli dizigoti è più basso che in gemelli monozigoti, ma il ruolo di fattori genetici nella etiopatogenesi del DOC resta incerto. Non ci sono differenze di frequenza significative fra uomini e donne e un dato singolare è la percentuale elevata di non coniugati, maggiore fra i maschi (50-70%) che fra le donne (35-40%).

L'età di insorgenza cade di solito nella prima età adulta e nell'adolescenza, più raramente nell'infanzia (Adams, 1973). Il decorso è vario; la cronicizzazione è più probabile in assenza di sintomi depressivi.

Diversi studi confermano l'idea che la sindrome si associ a un quoziente intellettivo elevato e ad una maggiore capacità di pensiero astratto. Tratti anancastici sono di solito dominanti nella personalità premorbosa: meticolosità, incertezza, dubbio, procrastinazione, indecisione, inibizione, superstizione, etc.

È possibile che la malattia sia più diffusa nelle classi sociali medio-alte. È descritta in tutti i Paesi Occidentali e in molte altre culture con caratteri di forma e contenuto sorprendentemente simili (Emmelkamp, 1982).

**Valutazione psicometrica**

Nel campo dei pensieri ossessivi, una buona classificazione è quella di Woodruff *et al.* che ne hanno distinto sei tipi: idee, immagini, convinzioni, ruminazioni, impulsi e paure.

I principali strumenti psicometrici utilizzati nella valutazione del DOC sono la *Yale-Brown Obsessive Compulsive Scale* (Y-BOCS) e il *Maudsley Obsessional Compulsive Inventory* (MOCI).

La Y-BOCS è un questionario, compilato dal clinico, di 10 items, 5 per le ossessioni e 5 per le compulsioni, a ciascuno dei quali viene assegnato un punteggio su una scala a 5 punti, da 0 (meno sintomatico) a 4. La scala valuta quanto tempo occupano i sintomi, quanto sono invalidanti, quanto sono penosi, quanto sono contrastati e quanto sono controllabili. Il punteggio varia da 0 a 40; il *cut-off* (punto di distinzione) normale/patologico è 15/16. La Y-BOCS è utile per misurare la risposta al trattamento in termini di variazioni di gravità.

Il MOCI è compilato dal paziente ed è, anzitutto, un inventario dei sintomi.

**Diagnosi**

L'ICD-10 indica le seguenti linee-guida diagnostiche per quanto concerne il DOC:

sintomi ossessivi o comportamenti compulsivi sono presenti quasi tutti i giorni da almeno due settimane, provocano malessere e interferiscono con le attività quotidiane;

il paziente li riconosce come pensieri o impulsi propri;

c'è ancora almeno un pensiero o un gesto al quale il paziente tenta di resistere anche se ha rinunciato ad opporsi ad altre ossessioni;

pensieri e gesti coatti non sono fonte di piacere ma al più di sollievo da una tensione;

pensieri, immagini o impulsi sono spiacevolmente ripetitivi.

La diagnosi differenziale più importante riguarda i disturbi depressivi. Le due sindromi si presentano spesso associate. Nelle forme acute, la precedenza diagnostica dovrebbe seguire l'ordine di comparsa dei sintomi; se non c'è una chiara successione, è opportuno considerare primaria la depressione. Nelle forme croniche, la priorità diagnostica spetta a quella delle due sindromi che tende a persistere anche in assenza dell'altra.

Alcuni AA. (Rothenberg, 1986; Holden, 1990) hanno sostenuto l'ipotesi che anoressia nervosa e bulimia siano forme contemporanee di DOC.

**Terapia**

Fra i trattamenti biologici, i neurolettici, le benzodiazepine e l'elettroshock si sono dimostrati poco efficaci nella maggior parte dei casi. La psicochirurgia ha un ruolo del tutto marginale, limitato a casi gravissimi resistenti da molto tempo a ogni altro trattamento.

I farmaci antidepressivi (AD), invece, sono quelli che hanno suscitato il maggior interesse. Mentre l'azione antidepressiva di tali farmaci sembra relativamente indipendente dal loro profilo monoaminergico, l'efficacia antiossessiva pare specificamente legata all'attività serotoninergica.

Fra gli AD la *clomipramina* (Anafranil®) è quello più studiato nel DOC: la sua efficacia antiossessiva è stata riconosciuta nel corso degli ultimi 10 anni da vari studi doppio-cieco *placebo*-controllati. La clomipramina è un potente inibitore della ricaptazione della serotonina ma la *desmetilclomipramina*, suo principale metabolita, agisce anche sulla noradrenalina. Tuttavia, gli studi sull'ac. 5-idrossi-indol-acetico, metabolita della serotonina, nel liquor e quelli sulla serotonina piastrinica sembrano avvalorare l'ipotesi che l'efficacia antiossessiva della clomipramina sia legata soprattutto alle sue proprietà serotoninergiche.

La recente disponibilità di AD selettivamente serotoninergici (*fluoxetina*, Prozac®; *fluvoxamina*, Dumirox® e altri; *zimelidina*) ha ulteriormente sostenuto questa ipotesi: diversi studi sembrano confermare una loro efficacia significativamente superiore al *placebo* nel trattamento del DOC in pazienti con e senza sintomi depressivi associati.

La clomipramina è usata a dosi giornaliere fino a 300 mg ma è consigliabile non superare la dose di 250 mg per diminuire il rischio di crisi comiziali; la fluoxetina a dosi gior-





Digitized by Google

naliere di 20-60 mg; la fluvoxamina a dosi fino a 300 mg. I pochi studi catamnestici a lungo termine (Marks: 2 anni), concludono che gli AD hanno un effetto comunque transitorio che scompare dopo la loro sospensione.

I farmaci citati sono superiori al *placebo* nel trattamento dei sintomi-bersaglio del DOC, ma non lo guariscono; inoltre, alcuni pazienti non presentano neanche un miglioramento sintomatico transitorio. Si deve ritenere pertanto che una disfunzione del sistema serotoninergico sia solo uno dei fattori etiopatogenetici che sottendono il DOC (Jenike *et al.*, 1990).

Gli interventi psicoterapeutici sono la scelta d'elezione. Va premesso che la cura degli ossessivi resta una delle più difficili in psichiatria. La psicoanalisi ha portato contributi straordinari alla comprensione del DOC. La sua efficacia terapeutica sul piano dei sintomi (ossessioni e rituali) è però limitata; due tratti sembrano predittivi in senso positivo: l'età molto giovane del paziente e la ricchezza della sua vita affettiva (Lanteri Laura, Del Pistoia, 1984). Le terapie comportamentali, centrate sulla modificazione diretta del comportamento ossessivo, hanno dato risultati migliori nei rituali di lavaggio che in quelli di verifica (Marks, 1981; 1987; Cottraux, 1989). L'approccio cognitivista ha aumentato l'efficacia dell'esposizione *in vivo* con prevenzione della risposta ritualizzata e ha consentito di affrontare in modo nuovo il problema delle ruminazioni mentali (Emmelkamp, 1982; 1988).

**Bibliografia**


Adams P., *Obsessive Children*, 1973, Penguin Books, New York.

Beech H. R. ed., *Obsessional States*, 1974, Methuen Press, London.

Cottraux J., *Obsessions et compulsions*, 1989, PUF, Paris.

Emmelkamp P. M. G., *Phobic and Obsessive Compulsive Disorders*, 1982, Plenum Press, New York.

Emmelkamp P. M. G., Visser S., Hoekstra R. J., *Cognitive Therapy and Research*, 1988, **12**, 103-114.

Holden N. L., *Br. J. Psych.*, 1990, **157**, 1-5.

Jenike M. A. *et al.*, *Am. J. Psych.*, 1990, **147**, 1209-1215.

Lanteri Laura G., Del Pistoia L., *Névrose obsessionnelle*, in *Encycl., Méd. Chir., Psychiatrie* (Paris, France), 37370 A10, 7-1984.

Marks I. M., *Cure and Care of Neuroses*, 1981, John Wiley & Sons, New York.

Marks I. M., *Fears, Phobias and Rituals: Panic, Anxiety and Their Disorders*, 1987, Oxford University Press, New York.

Rachman S., Hodgson R. J., *Obsessions and Compulsions*, 1980, Prentice Hall, Englewood Cliffs.

Rothenberg A., *Psychiatry*, 1986, **49**, 45-53.

Shear M. K., Frosch W. A., *Obsessive-Compulsive Disorder*, in Michels R., Cavenar J. O. eds., *Psychiatry*, 1985, vol. 1, Lippincott, Philadelphia

Woodruff R. A., Goodwin D. W., Guze S. B., *Psychiatric Diagnosis*, 1974, Oxford University Press, New York.


MASSIMO CUZZOLARO

## OSSIDORIDUZIONE [v. vol. X, col. 2187]

**Errata-corrige**

1) *Fig. 2*: la formulazione «HgCl» è errata; la formulazione corretta è «$Hg_2Cl_2$»;

2) *Didascalia della Fig. 3 (3ª riga)*: omettere le parole «ridotta con soluzione»; la formulazione corretta della riga è «di una forma ossidata con un agente ridu-».

3) *Col. 2190 [equazione (10)]*: la formulazione «$-\Delta G_0$» è errata; la formulazione corretta è «$\frac{-\Delta G_0}{n F}$».

4) *Col. 2194 (1ª riga del testo dall'alto)*: la formulazione «(fig. 4)» è errata; la formulazione corretta è «(fig. 3)».

5) *Col. 2197 (10ª riga del testo dal basso)*: la formulazione «$\Delta G_0 = \Delta T_0 - \Delta HS_0$» è errata; la formulazione corretta è «$\Delta G_0 = \Delta H_0 - T\Delta S_0$».

## OSSIGENAZIONE EXTRACORPOREA

*Sin.*: assistenza respiratoria extracorporea a lungo termine; *Extracorporeal $CO_2$ Removal ($ECCO_2R$)*.

SOMMARIO



### Introduzione

La sindrome da *distress* respiratorio dell'adulto (ARDS: *Adult Respiratory Distress Syndrome*: v. POLMONARE EDEMA, XII, 380; RESPIRATORIO APPARATO, *polmone da shock*, XIII, 930) è una condizione patologica caratterizzata da insufficienza respiratoria acuta di tipo parenchimale che coinvolge i polmoni bilateralmente e che riconosce diversi fattori causali: infezioni, aspirazione, inalazione, etc. Indipendentemente dal fattore etiologico, si verifica un danno a livello dell'endotelio polmonare con formazione di edema «lesionale»; proteine, acqua e cellule filtrano nell'interstizio, con conseguente collasso ed atelettasia degli alveoli. Funzionalmente, i polmoni perdono la loro naturale distensibilità (diminuita *compliance*), vi è una grave ipossiemia dovuta alla perfusione di zone di polmone nonaerate (il sangue venoso rimane tale e si mischia al sangue arterializzato, fenomeno detto *shunt* destro-sinistro), mentre la radiologia dimostra polmoni diffusamente opachi con aree di maggiore densità (consolidamento). Il parenchima polmonare aerato è quindi spesso ridotto al 10-20% del normale (*baby lung*) (Gattinoni *et al.*, 1987) e l'intera funzione di scambio gassoso deve essere svolta da questa piccola porzione di parenchima residuo.

### Terapia convenzionale dell'ARDS

Il quadro gasanalitico tipico dell'ARDS è caratterizzato da una bassa $PaO_2$, nonostante elevati livelli di $FiO_2$, con normali o bassi valori di $PaCO_2$, almeno nelle fasi iniziali della patologia. Quale che sia il supporto ventilatorio utilizzato (CPAP, CPPV, IRV, HFJV), la pressione positiva e gli alti livelli di $FiO_2$ sono i soli mezzi utili per migliorare l'ossigenazione, ed alti volumi/minuto di ventilazione sono necessari per assicurare una efficace rimozione della $CO_2$ prodotta.

In queste condizioni, la ventilazione «specifica», cioè la ventilazione per unità di volume polmonare, può essere 10-20 volte il valore normale e questa ventilazione, in polmoni *baby*, implica elevati picchi pressori. Tutti questi fattori, iperventilazione specifica (Mascheroni *et al.*, 1985), picchi pressori (Dreyfuss *et al.*, 1985; Kolobow *et al.*, 1985), elevate frazioni di ossigeno inspiratorio (Dancke e Fanburg, 1982), sono noti fattori di danno delle strutture polmonari sane. Il polmone *baby* viene quindi progressivamente e ulteriormente danneggiato dal trattamento e quanto più «piccolo» è il polmone, tanto maggiore è il danno atteso.

### Supporto extracorporeo nell'ARDS

La prima applicazione clinica di supporto extracorporeo in un caso di insufficienza respiratoria acuta è stata descritta da Hill *et al.* nel 1972. L'obiettivo principale consisteva nell'ossigenare il sangue arterioso mediante un *bypass* veno-arterioso, nel tentativo di «guadagnare tempo», per permettere il processo riparativo nei polmoni. Contemporaneamente, si limitavano i potenziali danni della ventilazione meccanica mediante riduzione sia della frazione di $O_2$

che dei volumi insufflati. Dopo Hill, numerosi gruppi di ricercatori hanno usato tale tecnica, con una percentuale di sopravvivenza pari al 10% (Gille e Bagniewski, 1976).

Allo scopo di valutare l'efficacia di questa nuova tecnica chiamata *Extracorporeal Membrane Lung Oxygenation* (ECMO), negli anni '74-'77 è stato condotto negli U.S.A. uno studio policentrico randomizzato. I risultati di tale studio (studio ECMO, 1979) sono stati deludenti: trattati e controlli hanno dimostrato la medesima mortalità (90%).

Nel 1978 sono stati pubblicati i primi studi sperimentali che descrivono un nuovo approccio al problema dell'assistenza extracorporea nell'insufficienza respiratoria acuta (Gattinoni *et al.*, 1978a; 1978b; Kolobow *et al.*, 1978). L'idea base consiste nell'usare il polmone artificiale come «dializzatore» di $CO_2$, anziché come ossigenatore. Questo permette un trattamento del polmone naturale completamente differente da quello standard, in quanto la rimozione di $CO_2$ (*Extracorporeal $CO_2$ Removal*: $ECCO_2R$) riduce la necessità di ventilazione alveolare, permettendo così la messa «a riposo» del polmone malato (Gattinoni *et al.*, 1979).

Le differenze principali fra ECMO e $ECCO_2R$ consistono nella quantità di flusso extracorporeo (3,5 l/min nell'ECMO, 1-2 l/min nell'$ECCO_2R$) e, più importante, nel trattamento del polmone malato (ventilazione meccanica nell'ECMO e ossigenazione apneica, con 3 o 4 respiri/min nell'$ECCO_2R$: LFPPV = *Low Frequency Positive Pressure Ventilation*). In terzo luogo l'ECMO viene praticata in *bypass* veno-arterioso mentre l'$ECCO_2R$ viene effettuata in *bypass* veno-venoso. Tuttavia l'obiettivo finale di ambedue le tecniche è identico: «guadagnare tempo» perché il polmone naturale possa guarire.

**Tecnica dell'LFPPV-$ECCO_2R$**

L'applicazione in ambito clinico della LFPPV-$ECCO_2R$ (*Low Frequency Positive Pressure Ventilation-Extracorporeal $CO_2$ Removal*) viene introdotta nel 1979 come terapia dell'ARDS di grado severo. La gravità del quadro clinico, condizione fondamentale per l'applicazione di tale tecnica, viene definita dai medesimi criteri adottati nello studio ECMO (Zapol *et al.*, 1979; National Heart, Lung and Blood Institute, 1974) che delineano una popolazione con mortalità attesa superiore al 90% e che possono essere così riassunti:

a) $PaO_2$ di 50 mmHg con $FiO_2 = 0{,}6$ e PEEP = 5 $cmH_2O$ per 48 h;

b) $PaO_2$ di 50 mmHg con $FiO_2 = 1$ e PEEP = 5 $cmH_2O$ per 2 h.

A tali criteri viene poi aggiunto, come ulteriore criterio selettivo, un valore di *compliance* toraco-polmonare statica, misurata a un volume di 12 ml/kg, inferiore a 25 $ml/cmH_2O$.

*Circuito extracorporeo*

Il circuito extracorporeo comprende due polmoni artificiali a membrana di silicone o a fibre cave capillari, pompa del sangue e sistemi di sicurezza. Alla connessione vengono monitorizzate con grande attenzione la temperatura e la pressione. La circolazione extracorporea viene iniziata molto lentamente e solamente dopo circa 30 min si arriva ad un flusso extracorporeo di mantenimento (pari al 20, 30% della portata cardiaca), vengono quindi monitorizzati in continuo il ritorno venoso (dal paziente al *reservoir* prepompa, mediante microinterruttore che blocca la pompa con allarme in caso di collasso del *reservoir*), la temperatura, le pressioni a cavallo del polmone e la saturazione in $O_2$ del sangue venoso in entrata. I polmoni artificiali vengono ventilati con gas umidificati e riscaldati (37°) a flussi di 10-20 l/min. I pazienti vengono mantenuti con bassa coagulabilità del sangue mediante eparinizzazione sistemica.

*Conduzione clinica*

Durante il trattamento i polmoni naturali vengono mantenuti «a riposo» mediante ventilazione a bassa frequenza.

Lo svezzamento respiratorio dalla ventilazione a bassa frequenza viene iniziato quando l'elasticità del polmone migliora (*compliance* superiore a 30 $ml/cmH_2O$), con un consistente miglioramento del quadro radiologico polmonare. Il miglioramento della meccanica respiratoria è indice di scelta per il momento dello svezzamento.

Attualmente questa metodica è stata applicata in Europa (1991) a più di 300 pazienti con una sopravvivenza attorno al 50%.

**Discussione**

Questa tecnica di assistenza respiratoria extracorporea con «riposo» polmonare sembra realizzare due distinte fasi.

1) *Fase di miglioramento funzionale.* – Si tratta di una fase precoce, risultante generalmente in un immediato miglioramento della $PaO_2$ e del rapporto fra flusso polmonare che arriva ad alveoli ventilati e flusso polmonare totale ($Q_{va}/Q$). In questa prima fase le condizioni anatomiche del polmone possono rimanere invariate, e gli scambi gassosi sono semplicemente dipendenti dalle differenti condizioni di *input* in cui il polmone è chiamato a operare.

2) *Fase di risoluzione anatomica.* – A tempi differenti, dipendenti dalla sottostante patologia e dalla precedente storia del polmone, si assiste ad un miglioramento anatomico del parenchima malato. A nostro giudizio i parametri che meglio riflettono questo processo sono la *compliance* toraco-polmonare e il quadro radiologico.

Per quanto riguarda il futuro della LFPPV-$ECCO_2R$, si può dire che la ricerca si indirizza attualmente in varie direzioni, nel tentativo di espandere al massimo le sue applicazioni in ambito clinico. Recentemente è in studio un nuovo tipo di materiale (circuito e polmoni) alla cui superficie l'eparina è legata in modo covalente (Bindslev *et al.*, 1986). Tale sistema sembra rendere non necessaria l'eparinizzazione sistemica. Se tale possibilità verrà confermata è possibile che la tecnica di assistenza respiratoria extracorporea venga applicata più precocemente e su larga scala, con una complessità tecnica non superiore a quella della emofiltrazione. In ogni caso, rispetto a qualsiasi altra forma di assistenza respiratoria, che sfrutta al massimo il «piccolo» polmone residuo, con possibilità di danneggiarlo (Daneke e Fanburg, 1982; Faridy *et al.*, 1966; Kolobow *et al.*, 1987), l'assistenza extracorporea fornisce, temporaneamente, un polmone supplementare nuovo ed efficiente e rappresenta, comunque, un potente mezzo di trattamento, permettendo manovre terapeutiche (ad es. chirurgiche) e tempi di sopravvivenza altrimenti impossibili.

**Bibliografia**

Bindslev L. *et al.*, *Am. Soc. Artif. Intern. Organs*, 1986, **15**, 61-64.
Daneke S., Fanburg B., *Br. J. Anaesth.*, 1982, **54**, 737.
Dreyfuss D., Basset G., Soler P., *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1985, **132**, 880-884.
*Extracorporeal support for respiratory insufficiency: a collaborative study* (studio ECMO), 1979, National Heart, Lung and Blood Institute, Bethesda MD.
Faridy E. E., Permut S., Riley R. L., *J. Appl. Physiol.*, 1966, **21**, 1453.
Gattinoni L., Kolobow T. *et al.*, *Br. J. Anaesth.*, 1978a, **50**, 753.
Gattinoni L., Kolobow T. *et al.*, *Anesth. Analg.*, 1978b, **57**, 470.
Gattinoni L., Kolobow T. *et al.*, *Int. J. Artif. Organs*, 1979, **2**, 183.
Gattinoni L., Pesenti A., Avalli L. *et al.*, *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1987, **136**, 730-736.
Gille J. P., Bagniewski A., *Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs*, 1976, **22**, 102.





Digitized by Google

Hill J. D., O'Brien T. G., Murray J. T., *N. Engl. J. Med.*, 1972, **286**, 629.
Kolobow T., Gattinoni L., Tomlinson T. *et al.*, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 1978, **75**, 261.
Kolobow T., Moretti M., Fumagalli R. *et al.*, *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1985, **131** (Suppl.), 137-139.
Kolobow T., Moretti M. P., Fumagalli R. *et al.*, *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1987, **135**, 312.
Mascheroni D., Kolobow T., Fumagalli R. *et al.*, *Crit. Care Med.*, 1985, **13**, 330-334.
*Protocol for Extracorporeal Support for Respiratory Insufficiency*, 1974, National Heart, Lung and Blood Institute, Bethesda.
Zapol W. M., Snider M. T., Hill J. D. *et al.*, *JAMA*, 1979, **242**, 2193-2196.

LUCIANO GATTINONI

## OSSIGENO [v. vol. X, col. 2198]

### Ossigeno liquido

L'ossigeno [$O_2$], che si trova sotto forma di gas nelle condizioni normali di temperatura e di pressione, se raffreddato a −183 °C, si trasforma nello stato liquido. Un litro di $O_2$ liquido si ottiene per liquefazione di 860 l di $O_2$ gassoso. L'$O_2$ liquido è inodore, poco più denso dell'acqua e di colore azzurro. Il colore è dovuto probabilmente ad una piccola concentrazione di molecole associate di $O_2$.

L'$O_2$ liquido viene prodotto mediante frazionamento dell'aria liquefatta (distillazione in controcorrente dell'aria liquida con separazione dei suoi componenti). Esso viene conservato, negli impianti di produzione, in idonei recipienti criogenici di deposito provvisti di apposite valvole e quindi trasportato, mediante idonee cisterne, nei contenitori di deposito installati presso le sedi di utilizzazione.

Particolari cautele devono essere osservate durante l'uso. Il D. M. 17.12.1977, che recepisce la direttiva C.E.E. 67/548 sulla classificazione ed etichettatura delle sostanze pericolose, classifica l'$O_2$ liquido come «sostanza pericolosa» che «può provocare l'accensione di materie combustibili» e che «provoca ustioni».

Oltre ai rischi connessi con le proprietà intrinseche dell'$O_2$, per il liquido si aggiungono quelli derivanti dalla sua temperatura estremamente bassa e dal rilevante aumento di volume (860 volte) che si verifica quando, alla temperatura ambiente, esso si trasforma nello stato gassoso. Ciò può provocare una sovraossigenazione dell'aria, con un contenuto di $O_2$ superiore al suo tenore naturale (21%). In una atmosfera sovrsossigenata, il comportamento delle sostanze combustibili, in caso di accensione, è diverso da quello che si verifica nelle atmosfere di aria naturale: esse bruciano più facilmente e violentemente, con una accresciuta velocità di combustione e rischio di esplosioni.

I materiali con cui l'$O_2$ liquido viene a contsito devono essere tali da non diventare fragili, non rompersi e non incendiarsi. I materiali porosi combustibili, se impregnati di $O_2$ liquido, sono estremamente pericolosi. Il carbone impregnato con $O_2$ liquido è usato come esplosivo e materiali come carta e gomma, se imbevuti con $O_2$ liquido, diventano potenziali esplosivi.

Il contatto dell'$O_2$ liquido con oli, grsso, asfalto, cherosene, tessuti, legno, vernici, catrame e sporcizia può provocare reazioni violente. Il suo contatto con la pelle provoca gravi ustioni e lesioni. In questi casi è necessario un immediato lavaggio della parte offesa con abbondante acqua fredda.

Contrariamente a quanto avviene per l'azoto liquido, l'$O_2$ liquido viene usato pochissimo per scopi connessi con la sua bassa temperatura. Fondamentale invece è l'uso a fini terapeutici e negli impianti di respirazione, in ambedue i casi ovviamente con trasformazione a temperatura ambiente dello stato liquido in quello gassoso, all'atto della somministrazione all'utilizzatore.

Considerato che l'ingombro dell'$O_2$, allo stato liquido, è molto minore di quello della stessa quantità di $O_2$ allo stato gassoso (1/860), spesso l'uso del liquido è preferito perché vantaggioso per una migliore utilizzazione dello spazio disponibile. Questo è essenzialmente il motivo per cui lo stoccaggio dell'$O_2$ è realizzato con il prodotto allo stato liquido. Ciò, sia presso gli impianti di produzione che presso le strutture ospedaliere. Queste prevedono una rete di distribuzione del liquido fino al sito di utilizzo e quindi la sua evaporazione, per consentire l'uso del gas prodotto da parte del paziente.

L'$O_2$ liquido ha un largo impiego anche in campo aeronautico negli impianti di respirazione a bordo dei velivoli, per i voli ad alta quota. Anche in questo caso, per i motivi citati, l'$O_2$ allo stato liquido è attualmente preferito a quello allo stato gassoso, soprattutto negli aerei militari, nei quali lo spazio disponibile è estremamente limitato.

L'$O_2$ liquido recentemente ha avuto largs diffusione anche nel campo dell'ossigenoterapia domiciliare a lungo termine. Infatti, attualmente tale terapia prevede, oltre all'impiego dell'$O_2$ gassoso compresso in bombole, anche l'utilizzo di $O_2$ liquido, mediante apposite apparecchiature basate su un sistema di travaso da un contenitore con funzione di deposito (20-40 l) ad un elemento portatile di piccolo volume (0,5-2 l) che permette l'utilizzo diretto dell'$O_2$ da parte del paziente, anche durante suoi eventuali spostamenti. Ciò gli consente una certa autonomia, assicurandogli un flusso costante di gas anche durante eventuali attività svolte in ambito extradomiciliare (1 l di liquido genera gas sufficiente per 7 h di trattamento). Inoltre, il liquido contenuto nel recipiente di stoccaggio è in quantità tale da assicurare almeno una settimana di terapia per la quale, in alternativa, sarebbe necessario un numero elevato di quelle piccole bombole di $O_2$ compresso che sono reperibili nelle farmacie.

Tuttavia, l'impiego dell'$O_2$ allo stato liquido, se vantaggioso ai fini dell'ingombro e della quantità di gas disponibile, presenta problemi particolari per quanto concerne la qualità del prodotto, oltre che in fase di produzione soprattutto in quella di utilizzazione. Infatti, il problema della purezza dell'$O_2$ allo stato liquido si pone in termini diversi da quelli dell'$O_2$ gassoso. Ciò in quanto, durante l'utilizzazione del liquido, si manifesta il fenomeno di accumulo progressivo delle impurezze in esso contenute poiché, a eccezione dell'ossido di carbonio, queste presentano una tensione di vapore minore di quella dell'$O_2$ liquido alla sua temperatura di ebollizione (−183 °C a 101 kPa). Ciò comporta di conseguenza una prescrizione di purezza più severa di quella relativa all'$O_2$ gassoso e che dovrebbe essere idonea a evitare, dopo il massimo periodo di utilizzazione previsto, eventuali danni provocati dall'accumulo di detti contaminanti: fenomeni di tossicità, esplosioni e riduzione o interruzione del flusso di erogazione dell'$O_2$. Quest'ultimo fenomeno potrebbe verificarsi a seguito di ostruzione di parti delle apparecchiature a causa di impurezze separatesi allo stato solido, per aver raggiunto concentrazioni superiori ai corrispondenti limiti di solubilità.

Sulla base di queste considerazioni, norme nazionali e internazionali attualmente in vigore stabiliscono specifiche di qualità per l'$O_2$ liquido usato in campo aeronautico militare. Esse fissano limiti per i suoi principali contaminanti, in relazione al suo processo di produzione per liquefazione dell'aria. Tali limiti, che si riferiscono alla produzione, sono stati stabiliti presupponendo un utilizzo del 99% del contenuto in $O_2$ di un contenitore e di conseguenza un arricchimento di circa 100 volte delle impurezze in esso contenute. Le norme prevedono una correzione di tali limiti all'utilizzo, in misura di un fattore di moltiplicazione (× 3), a causa dell'inevitabile aumento del contenuto di impurezze attribuibile al trasporto ed al confezionamento.

In linea con le norme esistenti in campo aeronautico, anche la Commissione di Farmacopea si è preoccupata di



Digitized by Google

**TAB. I. OSSIGENO LIQUIDO PER USO TERAPEUTICO**
**Requisiti di qualità (F.U. IX, II Suppl.)**

| | |
|---|---|
| Titolo | ≥ 99,5% |
| Contaminanti solidi: residuo totale ≤ 1 mg/l; assenza di particelle con Ø > 1 mm e di fibre con lunghezza > 6 mm e sezione > 40 μm | |
| Acqua | ≤ 0,005 mg/l gas |
| Anidride carbonica | ≤ 5,0 p.p.m. (v/v) |
| Ossido di carbonio | ≤ 5,0 p.p.m. (v/v) |
| Azoto protossido | ≤ 5,0 p.p.m. (v/v) |
| Metano | ≤ 60 p.p.m. (v/v) |
| Acetilene | ≤ 0,1 p.p.m. (v/v) |
| Etilene | ≤ 1,0 p.p.m. (v/v) |
| Etano e superiori | ≤ 3,0 p.p.m. (v/v) |
| Composti alogenati: | |
| solventi clorurati | ≤ 0,1 p.p.m. (v/v) |
| refrigeranti | ≤ 1,0 p.p.m. (v/v) |

garantire la qualità dell'$O_2$ liquido ad uso terapeutico, prevedendo per esso un'apposita monografia, in aggiunta a quella già esistente sull'$O_2$ gassoso, di prossima pubblicazione sul II supplemento alla F.U. IX.

Nella tab. I sono riportate le specifiche di qualità dell'$O_2$ liquido che compariranno nella suddetta monografia di Farmacopea.

V. anche: OSSIGENOTERAPIA (X, 2208); OSSIGENOTERAPIA*.

**Bibliografia**


Brambilla I., *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1985, **131**, 51-53.
Burch R. J., Palestri P. T., *Thermophysical Properties of Gases*, 1967, Airco, Murray Hill, N. J.
Grant W. J., *Medical Gases: their Properties and Uses*, 1978, HM+M Publisher Limited, Buckinghamshire.
Liquid & Gas, MIL-O-27210E (1977); Propellant MIL-P-25508E (1975), *Oxigen Specifications: Agencies of U. S. Government, Current Revisions of Aviator's Breathing*, NASA, MSFC Spec. 399.
*Pro-pharmacopea*, 1990, **2**, 19-21.
Vergeret J., Brambilla I., Monier M., *Europ. Resp. J.*, 1989, **2**, 20-25.


ELENA CIRANNI SIGNORETTI

## OSSIGENOTERAPIA [v. vol. X, col. 2208]

SOMMARIO



### Introduzione

Fu nel 1775 che Priestley e Scheele per primi pubblicarono separatamente le loro esperienze che segnarono la scoperta dell'$O_2$ e fu poco dopo Lavoisier a dimostrare che l'$O_2$ viene assunto dall'organismo attraverso i polmoni inalando l'aria ambiente mentre un altro gas, la $CO_2$, è eliminato nel corso dell'espirazione. A seguito di queste due fondamentali osservazioni l'$O_2$ fu ben presto utilizzato come agente terapeutico, ma in modo del tutto indiscriminato e per ogni sorta di patologia con risultati di conseguenza molto deludenti. Solo a partire dall'inizio di questo secolo, e quindi molto recentemente, alcuni AA. quali Haldane (1915), nel trattamento dei soldati che avevano respirato il fosgene, e Meakins (1921), nella terapia della polmonite lobare, iniziarono ad adoperare l'$O_2$ in modo mirato ottenendo risultati del tutto incoraggianti.

Dopo più di 70 anni dall'inizio della moderna ossigenoterapia e nonostante l'impressionante progresso nella conoscenza fisiopatologica relativa all'ipossia, alle effettive possibilità terapeutiche dell'$O_2$ ed alla sua tossicità, solo recentemente si è incominciato a definire i criteri scientifici e a delineare le modalità da seguire per un razionale uso farmacologico dell'$O_2$.

Occorre inizialmente tenere distinte la ossigenoterapia a breve termine, in cui l'$O_2$, a diverse concentrazioni, può essere somministrato a pressione atmosferica (*o. normobarica*) o a pressioni più elevate (*o. iperbarica*), dall'o. a lungo termine essenzialmente *normobarica*. Le diverse modalità di somministrazione dell'$O_2$ rispondono evidentemente a differenti indicazioni terapeutiche.

### Ossigenoterapia a breve termine normobarica

La principale indicazione di questa modalità di somministrazione dell'$O_2$, che è stata ed è tuttora quella più diffusa, è rappresentata dal trattamento dell'ipossia tessutale. Certamente nell'ambito dei vari tipi di ipossia tessutale (tab. I), l'ipossia ipossica o ipossiemia, indipendentemente dalla causa fisiopatologica che la determina (tab. II), è la situazione in cui l'o. trova la sua più razionale applicazione e conseguentemente i risultati più eclatanti. Infatti, l'unico effetto diretto che consegue alla somministrazione supplementare di $O_2$, ovviamente ad una concentrazione maggiore di quella in cui è presente nell'aria (20,93%), è l'incremento della pressione parziale alveolare di $O_2$ ($PA_2$) nelle zone polmonari ventilate; ciò comporta, in virtù degli scambi gassosi tra l'aria alveolare di tali zone ed il sangue capillare polmonare che le perfonde, l'incremento della pressione parziale di $O_2$ telecapillare polmonare ($PcO_2$) e di conseguenza, seppure in varia misura, della pressione parziale di $O_2$ nel sangue arterioso sistemico ($PaO_2$).

È intuitivo che quando la disponibilità di $O_2$ ai tessuti, determinata dal prodotto della gettata cardiaca per il contenuto arterioso di $O_2$, è carente, i migliori risultati della o. si verificano quando è il contenuto arterioso di $O_2$ ad essere ridotto e specificatamente a causa di una insufficiente $PaO_2$ (e cioè di una insufficiente saturazione dell'emoglobina), fenomeno che appunto caratterizza l'ipossiemia.

#### *Ipossia ipossica (ipossiemia)*

Il trattamento con $O_2$ supplementare a concentrazioni inspiratorie ($FIO_2$) variabili (in genere dal 24 al 50%) viene applicato in questa circostanza con lo scopo di portare il valore di $PaO_2$ al di sopra della soglia dei 60 mmHg. Non sono invece necessari ulteriori incrementi della $PaO_2$, i quali comporterebbero solo piccoli aumenti della saturazione dell'emoglobina, tali da non produrre significativi incrementi del contenuto arterioso di $O_2$. In realtà questa è una regola di applicazione generale, ma a volte è utile ottenere valori più elevati (o più bassi) di $PaO_2$, se ad es. coesistono fattori noti per spostare la curva di dissociazione dell'emoglobina verso destra (o verso sinistra), quali un aumento (o diminuzione) della temperatura corporea, della concentrazione idrogenionica nei liquidi dell'organismo, della pressione parziale della $CO_2$ nel sangue, della concentrazione dell'ac. 2-3 difosfoglicerico nei globuli rossi. È evi-




Digitized by Google

TAB. I. CAUSE DI IPOSSIA TESSUTALE

| | Esempi clinici | $PaO_2$ | Problema primario dei tessuti |
|---|---|---|---|
| Ipossia ipossica | V. tab. II | B | NO |
| Ipossia circolatoria | Insufficienza cardiaca, ipovolemia, insufficienza arteriosa | N o B | NO |
| Ipossia cellulare | Avvelenamento da cianuro | N o A | SI |
| Alterata capacità di trasporto del sangue | Anemia, carbossiemoglobinemia, emoglobine anomale | N | NO |

A = Alta; N = Normale; B = Bassa.

TAB. II. CAUSE DI IPOSSIEMIA E RISPOSTA ALLA OSSIGENOTERAPIA

| Causa | Esempi clinici | Effetto dell'ossigenoterapia |
|---|---|---|
| Ridotta introduzione di $O_2$ | Altitudine | Rapido incremento della $PaO_2$ |
| Alterazione del rapporto $\dot{V}/\dot{Q}$ | Pneumopatie ostruttive | Moderatamente rapido incremento della $PaO_2$ |
| *Shunt* | Comunicazioni destro-sinistre. Fistole artero-venose polmonari | Variabile, spesso modesto, incremento della $PaO_2$ |
| Difetto di diffusione | Interstiziopatie | Moderatamente rapido incremento della $PaO_2$ |
| Ipoventilazione | Pneumopatie ostruttive croniche | Iniziale aumento della $PaO_2$ con variabile incremento successivo |

dente che le caratteristiche stesse del paziente (per es. l'età, l'altitudine a cui vive) e le differenti condizioni cliniche che occorre fronteggiare, e a volte prevedere, possono senz'altro richiedere aggiustamenti anche sensibili del valore ottimale di $PaO_2$ richiesto.

Nella correzione dell'ipossiemia necessitano strategie diverse se coesiste o meno un aumento della pressione parziale di $CO_2$ ($PaCO_2$), definita come ipercapnia. Nel corso di una ipossiemia ipercapnica è buona norma infatti aumentare gradualmente la $PaO_2$ utilizzando $FIO_2$ modestamente elevate (24-28%) e bassi flussi di $O_2$ in quanto talvolta l'abolizione troppo rapida dell'ipossiemia può rimuovere lo stimolo ipossico alla ventilazione, deprimere ulteriormente la ventilazione alveolare ed incrementare eccessivamente la $PaCO_2$.

Nonostante che una prudente e controllata somministrazione di $O_2$ supplementare consenta di norma una sufficiente correzione dell'ipossiemia senza pericolosi aumenti della $PaCO_2$, a volte certi pazienti sviluppano una progressiva ipercapnia ed acidosi respiratoria associata a confusione, stupore e coma. In questo caso la soluzione migliore è l'introduzione della ventilazione meccanica previa intubazione che permette un'efficace ossigenazione senza dover usare $FIO_2$ superiori al 50%, normalizzando facilmente l'ipercapnia e le sue conseguenze, mediante l'adozione di opportuni volumi correnti, frequenze respiratorie e flussi inspiratori.

In presenza di ipossiemia normocapnica si può iniziare un'o. già a $FIO_2$ più elevate (intorno al 36-40%) e regolarsi successivamente in base alla risposta dei gas arteriosi, senza dover procedere gradualmente e per piccoli aggiustamenti. In questi pazienti il ricorso alla intubazione e alla ventilazione meccanica è consigliabile quando sono necessarie per lungo tempo $FIO_2$ pari al 50-60% o superiori per ottenere una sufficiente ossigenazione. Esistono, comunque, situazioni caratterizzate da elevate quote di *shunt*, in cui anche in presenza di un'adeguata ventilazione meccanica la correzione dell'ipossiemia non si ottiene neppure utilizzando $FIO_2$ estremamente elevate. In tali casi si devono adottare misure terapeutiche aggiuntive, quali l'introduzione della pressione positiva tele-espiratoria (PEEP) o della pressione positiva continua (CPAP) le quali, mediante un aumento del volume polmonare, permettono di migliorare l'ossigenazione prevenendo il collasso delle piccole vie aeree e la formazione di *shunt* durante l'espirazione. In virtù del miglioramento degli scambi gassosi intrapolmonari le $FIO_2$ richieste per mantenere una adeguata $PaO_2$ possono essere ridotte.

In conclusione, nel trattamento dell'ipossiemia è bene sempre individualizzare la o. pur nel rispetto di regole ben codificate, quali l'ottenimento di una saturazione emoglobinica almeno del 90% e l'uso della più bassa concentrazione inspiratoria di $O_2$ necessaria per questo scopo, specie se la somministrazione è prevista per più di 24 h consecutive.

*Ipossia circolatoria*

Per quanto sottolineato in precedenza, la somministrazione supplementare di $O_2$ in caso di inadeguata perfusione sistemica, dovuta sia a insufficienza cardiaca che ad una ridotta volemia, non potrà essere che una misura interlocutoria atta a correggere un'eventuale, anche lieve, ipossiemia e ad aumentare la quota di $O_2$ fisicamente disciolto, in attesa della correzione delle cause responsabili della diminuzione della gettata cardiaca, principale determinante della ridotta disponibilità di $O_2$ ai tessuti in queste circostanze. Non esistono, comunque, studi in grado di documentare l'efficacia dell'o. in questo ambito. Neppure in caso di infarto miocardico in assenza di ipossiemia è stato possibile dimostrare un reale beneficio in termini di mortalità, di insorgenza di aritmie, di intervalli di tempo sistolici e di fabbisogno di farmaci analgesici legato all'adozione dell'o.

In conclusione, l'uso di una o. di routine in questi casi sembra opinabile, sebbene a tutt'oggi ciò resta un problema senza una definitiva risposta.



Digitized by Google

*Ipossia da alterata capacità di trasporto del sangue*

In queste circostanze il contenuto del sangue arterioso di $O_2$ è ridotto, a causa di una riduzione della quantità di emoglobina normale circolante (ipossia anemica) o a causa della presenza di emoglobine qualitativamente e/o quantitativamente anomale, meno efficaci nel trasporto di $O_2$ ai tessuti. Nessun sostanziale vantaggio, a parte un aumento della quota di $O_2$ fisicamente disciolto, può essere ottenuto in questi casi dall'introduzione di un'o. che rappresenta quindi un semplice trattamento di supporto in attesa di misure terapeutiche specifiche realmente efficaci.

Viceversa, nel caso di uno spiazzamento della molecola dell'$O_2$ dall'emoglobina, dovuto alla presenza di grandi quantità nel sangue arterioso di monossido di carbonio, che ha un'affinità di legame per l'emoglobina oltre 200 volte superiore a quella dell'$O_2$, la rapida somministrazione supplementare di $O_2$ ad elevate concentrazioni e spesso anche ad elevate pressioni, rappresenta il trattamento elettivo (anche se inizialmente la $PaO_2$ risulta normale). Un cospicuo aumento della $PaO_2$ è infatti in grado di favorire la dissociazione del monossido di carbonio dall'emoglobina, restituendo al pigmento la capacità di trasportare l'$O_2$ ed allontanando la quota di monossido di carbonio legata ai tessuti.

**Ossigenoterapia a breve termine iperbarica**

Esistono alcune situazioni patologiche in cui la somministrazione di $O_2$ a pressioni superiori a quella atmosferica, usualmente a concentrazioni del 100%, rappresenta una terapia ormai codificata ed altre in cui tale metodica viene adottata in quanto ritenuta potenzialmente favorevole (v. anche IPERBARICA TERAPIA).

*Trattamento della malattia da decompressione*

Una decompressione troppo rapida, quale si verifica in nuotatori subacquei che ascendono troppo velocemente dopo un'immersione prolungata e profonda o in persone che lavorano in gallerie o camere ad alta pressione, produce un passaggio dell'$N_2$ dallo stato liquido in cui si trova nei vari organi, specie quelli ricchi di tessuto adiposo dove il gas è più solubile, allo stato gassoso in quantità troppo cospicua da poter essere smaltita dai polmoni. In queste circostanze si formano bolle di $N_2$ sia nei liquidi extravascolari che intravascolari responsabili della comparsa di artralgie, deficit neurologici centrali, infarti spinali, embolia gassosa polmonare, shock. Una ricompressione d'emergenza in camera iperbarica con $O_2$ riduce le dimensioni delle bolle gassose intravascolari e ne favorisce l'eliminazione.

*Trattamento dell'embolia gassosa*

L'accidentale passaggio di aria nel sistema vascolare, spesso dovuto alla rottura degli alveoli polmonari da sovraespansione polmonare, che si verifica nei nuotatori subacquei che risalgono trattenendo il respiro, può causare emboli gassosi, specie cerebrali, pericolosi per la vita. Un'o. iperbarica quanto più rapida possibile rappresenta il trattamento più efficace in questi casi con risultati spesso eccellenti.

*Trattamento dell'intossicazione da monossido di carbonio*

Come già ricordato in precedenza, la somministrazione iperbarica di $O_2$ in particolare se l'intossicazione è grave o prolungata, è raccomandata, quando possibile, sulla base dei risultati a volte spettacolari riportati in letteratura. Il maggior effetto è rappresentato dal significativo incremento della quota di $O_2$ fisicamente disciolto nel plasma che si può ottenere con le altissime $PaO_2$ raggiunte nel sangue con tale tecnica. Ciò contribuisce a mantenere il contenuto di $O_2$ nel sangue arterioso ad un livello accettabile per le necessità metaboliche dei tessuti.

*Trattamento della gangrena gassosa da infezioni da clostridi*

Sempre in associazione con una specifica terapia antibiotica e il necessario sbrigliamento chirurgico delle lesioni gangrenose, la somministrazione supplementare di $O_2$ al 100% alla pressione di 3 atm per 2 h viene utilizzata ed è abitualmente efficace nel rallentare o fermare la progressione dell'infezione sostenuta da clostridi, bacilli grampositivi anaerobi obbligati.

*Trattamento delle infezioni da actinomiceti*

Molte specie di actinomiceti, batteri grampositivi, responsabili nell'uomo di infezioni cervicofacciali, polmonari, gastrointestinali, pelviche e di sepsi, sono anaerobi obbligati. In associazione con la risolutiva ed essenziale terapia antibiotica specifica, l'o. iperbarica può essere utilmente presa in considerazione in casi selezionati.

*Trattamento della osteomielite cronica*

In questa condizione patologica, accanto alla necessaria terapia antibiotica specifica per il germe responsabile ed a eventuali terapie chirurgiche di elezione, l'o. iperbarica è risultata in grado di stimolare la proliferazione vascolare e la funzione dei fagociti nell'osso infetto.

**Ossigenoterapia a lungo termine normobarica**

L'uso dell'o. continua (o quasi continua) a lungo termine è attualmente raccomandato per il *trattamento domiciliare* delle malattie polmonari ostruttive croniche (COPD) avanzate, che soddisfano requisiti predeterminati (tab. III).

In queste condizioni, l'efficacia dell'o. è stata documentata da due recenti, ma ormai classici, studi controllati e multicentrici, condotti in Gran Bretagna e negli Stati Uniti e rispettivamente conosciuti sotto il nome di MRC e NOTT (fig. 1). Questi studi hanno indicato che la mortalità conseguente alla pneumopatia è significativamente ridotta quando l'$O_2$ supplementare è inalato per 15 h al giorno (studio MRC) e che la mortalità è più bassa quando l'$O_2$ viene somministrato per 24 h al giorno piuttosto che per 12 h al giorno (studio NOTT). Inoltre la somministrazione di $O_2$ per 24 h al giorno è risultata significativamente correlata ad una maggiore riduzione dell'ematocrito e delle resistenze vascolari polmonari e ad un miglioramento delle funzioni neuropsichiche e della «qualità di vita». Ciò è stato riscontrato non solamente alla fine del periodo di os-

**TAB. III. INDICAZIONI PER L'OSSIGENOTERAPIA DOMICILIARE A LUNGO TERMINE**

1. $PaO_2$:50-55 mmHg quando il paziente è sveglio e respira aria ambiente, nonostante una terapia medica ottimale
2. Complicazioni dell'ipossiemia quali ipertensione polmonare, cuore polmonare, aritmie o poliglobulia
3. Caduta della $PaO_2$ a 50-55 mmHg durante esercizio fisico o per periodi prolungati durante il sonno
4. Miglioramento documentato nella tolleranza all'esercizio o riduzione della frequenza cardiaca mentre il paziente respira $O_2$ ad un dato livello di esercizio
5. Compromessa funzionalità neuropsichica associata ad ostruzione cronica al flusso aereo





Digitized by Google

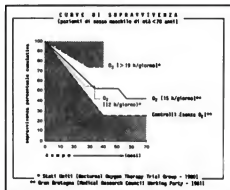



Fig. 1. Curve di sopravvivenza in relazione alla durata giornaliera dell'o.

Fig. 2. Piccoli contenitori portatili (*stroller*) che consentono l'o. extradomiciliare.

servazione (500 giorni per lo studio MRC e poco meno di 3 anni per lo studio NOTT), ma anche agli intervalli di tempo intermedi analizzati.

Recentemente si è osservato ehe in pazienti trattati con o. la sopravvivenza è correlata con aleuni parametri di funzionalità respiratoria, come la capacità vitale forzata (FVC) ed il volume espiratorio massimo nel primo secondo ($FEV_1$ o VEMS), contrariamente ai pazienti non trattati, in cui, viceversa, la $PaO_2$ più elevata e la pressione arteriosa polmonare media più bassa sono i parametri ehe si accompagnano ad una maggiore sopravvivenza. Ciò sembra indicare che anehe la funzionalità delle vie aeree costituisce un importante criterio nella selezione dei pazienti che potrebbero beneficiare della o.

La possibilità di somministrare continuativamente $O_2$ a domicilio per lungo tempo può essere fornita: 1) dall'uso di *bombole* ad alta capacità contenenti $O_2$ allo stato gassoso; 2) dall'adozione di sistemi capaci di immagazzinare $O_2$ *liquido*; 3) dai *concentratori* di $O_2$ in grado di produrre un'atmosfera arricchita di $O_2$ (circa il 90% per gli apparecchi che utilizzano il filtro molecolare) a partire dall'aria ambiente, per rimozione fisico-chimica dell'$N_2$.

La prima soluzione è piuttosto laboriosa e poco pratica; la seconda presenta una maggior comodità per il fatto che il ricambio dell'$O_2$ liquido (a tal proposito, v. OSSIGENO*) può essere effettuato una volta la settimana e ha inoltre il vantaggio che l'$O_2$ liquido può essere trasferito in piccoli contenitori portatili (*stroller*) (fig. 2), per consentire una o. extradomiciliare. I concentratori, capaci di fornire un flusso di 4 l/min di aria contenente $O_2$ in percentuale estremamente elevata, rappresentano nella maggior parte dei casi il mezzo più soddisfacente in termini di rapporto costi/beneficio e per questo motivo stanno divenendo sempre più popolari e diffusi.

**Tecniche e sistemi di somministrazione dell'ossigeno**

Si possono schematicamente suddividere i sistemi per la somministrazione a breve termine di $O_2$ in sistemi a bassi flussi e sistemi ad alti flussi (tab. IV).

I *sistemi a bassi flussi* non intendono sopperire alle richieste inspiratorie totali del paziente. Ogni volume corrente contiene una quantità variabile di aria ambiente, cosicché la $FIO_2$ può variare notevolmente in quanto dipende dal flusso di $O_2$ fornito e dal *pattern* ventilatorio scelto dal paziente. In media, somministrando $O_2$ a bassi flussi, si ottiene un incremento della $FIO_2$ pari al 3% per l/min di flusso di $O_2$. Cannule nasali (piccoli tubicini di plastica inseriti nelle narici) e cateteri nasali (cateteri di plastica inseriti attraverso il naso e posizionati con l'estremità nel retrofaringe) rappresentano i sistemi più semplici, economici e meglio tollerati per somministrare $O_2$ a bassi flussi (1-6 l/min) e consentono di raggiungere in molti casi $FIO_2$ sufficienti a correggere utilmente l'ipossiemia. Questi dispositivi sono indicati in pazienti ipossiemici a causa di

**TAB. IV. DISPOSITIVI DI SOMMINISTRAZIONE DELL'$O_2$ A BREVE TERMINE**

| Dispositivi | Flusso di $O_2$ l/min | *Range* di $FIO_2$ |
|---|---|---|
| *Sistemi a bassi flussi* | | |
| • Cannule nasali | 1 | 0.21-0.24 |
| | 2 | 0.23-0.28 |
| | 3 | 0.27-0.34 |
| | 4 | 0.31-0.38 |
| | 4-6 | 0.32-0.50 |
| • Maschere semplici | 1-2 | 0.21-0.24 |
| | 3-4 | 0.25-0.32 |
| | 5-6 | 0.30-0.50 |
| • Maschere con *reservoir* | | |
| rirespirazione parziale | 5 | 0.35-0.50 |
| | 7 | 0.35-0.75 |
| | 10 | 0.50-0.90 |
| senza rirespirazione | 4-10 | 0.60-1.00 |
| *Sistemi ad alti flussi* | | |
| • *Venti-masks* | 4-6 (105) | 0.24 |
| | 4-6 (45) | 0.28 |
| | 8-10 (45) | 0.35 |
| | 8-10 (35) | 0.40 |

I numeri tra parentesi rappresentano il flusso totale in l/min, comprensivo cioè dell'$O_2$ più l'aria ambiente entrata.





Digitized by Google

un'alterata distribuzione del rapporto ventilazione/perfusione, che non sono eccessivamente tachipnoici e il cui fabbisogno di $O_2$ non è elevato.

Maschere semplici o dotate di un *reservoir*, da cui viene inspirato l'$O_2$ fornito, possono garantire $FIO_2$ più elevate rispetto alle cannule e/o ai cateteri nasali. Sono necessari flussi di $O_2$ intorno ai 5-6 l/min per evitare l'accumulo di $CO_2$ all'interno della maschera nel caso delle maschere semplici, o per impedire il collabimento del sacchetto di respirazione durante l'inspirazione nel caso delle maschere con *reservoir*. Evidentemente questi dispositivi sono meno pratici in quanto interferiscono con l'alimentazione, la espettorazione e la comunicazione del paziente ed anche più scomodi perché, specie durante il riposo notturno, tendono a spostarsi perdendo aderenza con il volto del paziente.

I *sistemi ad alti flussi* sono concepiti, viceversa, per soddisfare completamente la domanda inspiratoria del paziente, mediante l'adozione di un flusso elevato di $O_2$ e un'entrata controllata di aria ambiente. Rispettando le indicazioni d'uso, si ottengono accurate $FIO_2$ ($\pm$ 1%) nel *range* compreso tra 24 e 40%. Ciò può risultare molto utile in pazienti ipossiemici con ipercapnia e in tutti quei casi in cui è necessario conoscere esattamente la $FIO_2$.

Le maschere di Venturi o *Venti-masks* rappresentano i più comuni dispositivi utilizzati per la somministrazione di $O_2$ ad alti flussi e sono state così denominate sottintendendo che esse operano secondo il principio di Venturi. In realtà esse operano seguendo il principio del *jet-mixing*, per cui, convogliando l'$O_2$ in uno stretto condotto, il gas fuoriesce dall'ugello terminale ad alta velocità trasportando con sé i flussi laminari limitrofi di aria ambiente in maniera proporzionale alla sua velocità. Variando il calibro del condotto è possibile in tal modo diluire opportunamente l'$O_2$ con l'aria ambiente ottenendo $FIO_2$ note e che non variano secondo il *pattern* ventilatorio del paziente, poiché gli alti flussi richiesti ne eccedono la ventilazione/min.

Lo svantaggio di questi dispositivi è che non garantiscono $FIO_2$ precise sopra il 40%. Per ottenere, infatti, alte $FIO_2$ occorre ridurre la diluizione da parte dell'aria ambiente: ciò significa ridurre il flusso inspiratorio di $O_2$ nel dispositivo stesso a valori che spesso non eccedono più il flusso inspiratorio richiesto dal paziente che, quindi, inizia ad inalare anche aria ambiente col risultato finale di una diminuzione della $FIO_2$ prevista.

**Umidificazione in corso di ossigenoterapia**

L'umidificazione del gas inspirato in corso di o. può essere necessaria quando si utilizzano flussi superiori a 4 l/min per i sistemi a bassi flussi o quando necessitano elevate $FIO_2$ nei sistemi ad alti flussi. È in dubbio nelle altre situazioni. Due sono essenzialmente le possibilità, costituite dagli umidificatori e dai nebulizzatori.

Gli umidificatori sono recipienti in cui a temperatura ambiente l'$O_2$ viene fatto gorgogliare in acqua; la miscela di gas, $O_2$ e vapor d'acqua saturo o quasi-saturo, che ne fuoriesce non contiene perciò germi o altre impurità contaminanti. Occorre sottolineare che in virtù dell'evaporazione la temperatura si abbassa di qualche grado all'interno degli umidificatori e dei tubi di convogliamento del gas inspiratorio (a meno che essi non siano riscaldati); ciò comporta che la pressione di vapor d'acqua è minore di quanto prevedibile considerando la temperatura ambiente. La differenza di pressione tra vapor d'acqua saturo a livello alveolare e quella del gas inspirato, tende perciò a incrementarsi e quindi un'ulteriore umidificazione deve essere effettuata a spese del contenuto acquoso della mucosa respiratoria che di conseguenza tende a prosciugarsi maggiormente.

I nebulizzatori generano goccioline aerosolizzate attraverso svariati sistemi fisici (getti di gas compresso, ultrasuoni). Questi apparecchi sono usualmente riscaldati e l'$O_2$ che ne fuoriesce è saturo di vapor d'acqua, contenendo anche goccioline d'acqua, cosicché un eccesso di acqua viene fornito al tratto respiratorio. Per la medesima ragione a volte l'aerosol, che essi producono, può essere facilmente contaminato se non si adottano particolari misure igieniche, causando l'inalazione di germi e altre impurità con il gas inspiratorio.

È infine evidente che l'esclusione del naturale sistema di umidificazione rappresentato dal naso, dalla bocca e dalla trachea superiore, che si attua con l'inserimento di tubi endotracheali in corso di ventilazione meccanica, rende indispensabile adottare un sistema efficace di umidificazione artificiale per evitare l'ispessimento delle secrezioni, la compromissione della clearance mucociliare e l'eccessiva secchezza delle mucose respiratorie.

**Tossicità legata all'ossigenoterapia**

La somministrazione supplementare di $O_2$ ad alte concentrazioni comporta due diversi tipi di effetti negativi che possono essere definiti come alterazioni della normale fisiologia e danni tessutali ossigeno-indotti (tab. V). I primi si verificano solo per $FIO_2$ intorno al 100% e sono rapidamente reversibili quando si sospende l'erogazione di $O_2$. I secondi appaiono dipendere per gravità da molte variabili che includono il valore di $FIO_2$, la durata della somministrazione, l'età del paziente, il suo stato metabolico e nutrizionale e la precedente esposizione a sostanze ossidanti.

L'iperossia provoca danno tessutale attraverso un'aumentata produzione di radicali liberi ossigeno-derivati, quali anione superossido ($O_2^-$), perossido di idrogeno ($H_2O_2$), ossidrile (OH), da parte di alcuni sistemi di trasporto di elettroni di membrana e mediante la trasformazione della xantina-deidrogenasi in xantina-ossidasi. Questo enzima modificato utilizza $O_2$ piuttosto che $NAD^+$ come ossidante durante l'ossidazione della xantina e dell'ipoxantina, generando $O_2^-$. L'aumento della concentrazione endocellulare di questi radicali liberi altamente reattivi che ne consegue, supera le capacità dei sistemi antiossidanti (enzimatici e non) delle cellule, inducendo fenomeni come l'inattivazione degli enzimi sulfidrilici, la perossidazione dei lipidi

**TAB. V. EFFETTI DELL'IPEROSSIA**

**Alterazioni della normale fisiologia**
- Riduzione della ventilazione
- Riduzione dell'eritropoiesi
- Riduzione della gettata cardiaca
- Vasodilatazione arteriolare polmonare
- Vasocostrizione arteriolare sistemica

**Danni tessutali**
- *Danno polmonare*
  - Atelettasia da riassorbimento
  - Tracheobronchite
  - Sindrome da *distress* respiratorio
  - Displasia broncopolmonare
- *Danno oculare*
  - Fibroplasia del cristallino
  - Miopia
- *Danno del S.N.C.*
  - (esposizione iperbarica)
  - Convulsioni
  - Paralisi





Digitized by Google

insaturi di membrana e le alterazioni della sintesi del DNA responsabili del danno e della morte cellulare.

I danni polmonari sono i più frequenti; essi possono verificarsi dopo sole 12 h di somministrazione di $O_2$ al 100% e tendono a manifestarsi sequenzialmente nell'ordine in cui sono stati elencati.

Per questi importanti motivi l'o. deve essere condotta utilizzando la minor $FIO_2$ capace di mantenere un'adeguata ossigenazione tessutale. $FIO_2$ inferiori al 60% sono risultate ben tollerate nell'uomo anche per tempi prolungati senza significative alterazioni della funzionalità polmonare e degli scambi gassosi.

**Bibliografia**

Bone R. C., *Arch. Intern. Med.*, 1980, **140**, 85.
Davis J. C., Hunt T. K. eds., *Hyperbaric Oxygen Therapy*, 1978, MD.: Undersen Medical Society, Bethesda.
Fisher A. B., Forman H. J., *Oxygen Utilization and Toxicity in the Lungs*, in Fishman A. P., Fisher A. B. eds., *The Respiratory System, Circulation and Nonrespiratory Functions*, vol. 1, 1985, American Physiological Society, Bethesda, pp. 231-254.
Fulmer J. D., Snider G. L., *Chest*, 1984, **86**, 234.
Klein E. F. jr., Shah D. A., Modell J. H. *et al.*, *Chest*, 1973, **64**, 690.
Medical Research Council Working Party, *Lancet*, 1981, I, 681.
Nocturnal Oxygen Therapy Trial Group, *Ann. Intern. Med.*, 1980, **93**, 391.
Petty T. L., *Mayo Clin. Proc.*, 1987, **62**, 841.
Priestley J., *Experiments and Observations* on *Different Kinds of Air*, in *The Discovery of Oxygen*, Part I, 1923, Gourney and Jackson, London, pp. 53-54.
Register S. D., Downs J. B., Stock M. C. *et al.*, *Crit. Care Med.*, 1987, **15**, 589.
Roberts S. P., *Ann. Intern. Med.*, 1980, **93**, 499.
Scheele C. W., Chemical Treatise on Air and Fire, in *The Discovery of Oxygen*, Part II, 1923, Gourney and Jackson, London, p. 41.
Sellers W. F. S., Huggs C. M. B., *Anesth. Analg.*, 1987, **66**, S135.

CLAUDIO TANTUCCI E VITTORIO GRASSI

**OSSO** [v. vol. XI, col. 1]

## SEMEIOTICA RADIOLOGICA E SCINTIGRAFICA (XI, 32)

SOMMARIO



### RADIOGRAFIA DIGITALE

**Premessa**

Con l'introduzione dei calcolatori elettronici, in medicina, a partire dal 1970, è andata progressivamente sviluppandosi la *radiologia digitale* (v.; v.*). Abbiamo, quindi, oggi due possibili vie di formazione delle immagini, dopo esposizione alle radiazioni, quella *tradizionale* in cui l'immagine, detta di tipo *analogico*, viene prodotta utilizzando come rilevatore una pellicola fotosensibile, che sottoposta a un particolare trattamento chimico (sviluppo-fissaggio) evidenzia l'immagine latente creata dai raggi X, e quella *moderna*, detta *digitale*, in cui l'informazione viene convertita in forma numerica e quindi trattata con un calcolatore, con possibilità di elaborazioni varie e successiva documentazione su pellicola fotosensibile.

Si sono inoltre sviluppati complessi sistemi per ottenere immagini radiografiche direttamente in forma digitale (cosiddetti *sistemi in linea*) o indirettamente, digitalizzando un radiogramma tradizionale (*sistemi fuori linea*); si prevede che questi sistemi sostituiranno progressivamente le tecniche radiografiche tradizionali.

**Processo di digitalizzazione**

Il principio della digitalizzazione delle immagini è il seguente: il distretto da rappresentare viene scomposto in una griglia di quadratini, detti *pixel*, le cui dimensioni oscillano tra 50 e 400 μm. Più piccole sono le dimensioni del *pixel* più definita risulta l'immagine.

L'insieme dei *pixel* definiscono la matrice. Le matrici attualmente utilizzate sono costituite da 512 × 512 *pixel* o da 1024 × 1024 *pixel*. Sono allo studio matrici di 2048 × 2048 *pixel*, ed anche di 8192 × 8192 *pixel*, con cui la definizione dell'immagine sarà anche superiore a quella analogica. In ogni *pixel* l'informazione viene codificata mediante un numero di grandezza proporzionale alla radiazione assorbita in quel punto; a questo viene conferito un corrispondente *livello di grigio*, facendo riferimento ad una scala prefissata di 1024 livelli di grigio, in rapporto alla limitata capacità dell'occhio umano di distinguere minime differenze di intensità della scala dei grigi.

L'immagine viene quindi totalmente espressa con una sequenza di numeri (donde il termine digitale, dall'inglese *digit*, cifra), che possono venir gestiti ed elaborati dal calcolatore per conferire all'immagine stessa (espressa come si è detto sotto forma di toni di grigio) le caratteristiche volta per volta richieste per evidenziare le strutture anatomiche e/o patologiche che si intendono studiare.

Il potere di risoluzione spaziale del sistema dipende non solo dalla matrice del video, ma anche dalle caratteristiche fisiche degli *imaging plates*, e cioè dalla densità dell'arrangiamento spaziale dei cristalli di fluoro-alogenuro di bario (attivati all'eutropio), di cui è composto lo strato fotosensibile.

A seconda della densità dei cristalli, si avrà la possibilità di utilizzare, nel *software* dell'apparecchiatura, *pixel* da 0,2 × 0,2 mm o 0,1 × 0,1 mm di lato.

**Sistemi di radiologia digitale in linea**

L'oggetto dell'analisi è direttamente il paziente; si utilizzano per l'esposizione le normali apparecchiature radiografiche solo che al posto della cassetta radiografica tradizionale, viene invece inserito un *rivelatore* sotto forma di piastra radiosensibile (*imaging plate*). Sono disponibili due tipi di piastre.

1. *Piastra a fosfori fotosensibili*. – L'informazione, dopo l'esposizione ai raggi X, viene memorizzata sul piano radiosensibile della piastra costituita da microcristalli di fluoro-alogenuro di bario attivati all'eutropio. Successivamente la piastra viene letta tramite un sottile fascio di raggi laser, si recupera l'informazione sotto forma di «segnali luminosi», che amplificati da un fotomoltiplicatore, vengono trasformati in impulsi elettrici, memorizzati e quindi inviati ad un convertitore analogico-digitale.

2. *Piastra ad ossido di selenio*. – In questo caso la piastra è costituita da un supporto di alluminio, rivestito da cristalli amorfi di ossido di selenio che vengono caricati elettrostaticamente. La esposizione ai raggi X determina una variazione della carica elettrostatica; elettrometri multipli hanno poi il compito di trasformare le differenze di carica elettrostatica in impulsi elettrici.

Gli impulsi elettrici, nei due tipi di piastre, vengono poi, tramite





Digitized by Google

un cosiddetto *convertitore analogico-digitale*, trasformati in unità elementari digitali ed inviati alla memoria del computer.

Altri sistemi di radiologia digitale, sono *a*) il sistema a ventaglio radiante (*fan-beam*) e *b*) il sistema a pennello radiante (*pencil-beam*); in questo caso il rilevatore è uno scintillatore, donde il segnale luminoso viene poi inviato ad un fotomoltiplicatore.

**Sistemi di radiologia digitale fuori linea**

Si intendono i sistemi che consentono di convertire in forma digitale le informazioni contenute in un radiogramma analogico.

1. *Modalità di digitalizzazione di immagini analogiche*. – Il principio è il seguente: il radiogramma viene retroilluminato e l'immagine analogica suddivisa in unità elementari (*pixel*); a ogni singola area corrisponderà una certa intensità luminosa; questa informazione acquisita da una telecamera verrà poi elaborata in forma digitale. Vi sono due possibilità di scansione dell'immagine digitale:

a) mediante telecamera digitale, con un potere di risoluzione di 512 × 512 *pixel*, sensibile a 256 toni di grigio (telecamere più perfezionate possono raggiungere i 1035 × 1320 *pixel*);

b) mediante lettura laser: l'informazione luminosa letta dal raggio laser, tramite fibre ottiche, verrà inviata ad un fotomoltiplicatore e ad un convertitore analogico-digitale. La risoluzione è di 4133 × 3676 *pixel*.

2. *Utilità della conversione digitale*.

a) *Funzione di display*: l'esaltazione del contrasto consentirà lo sfruttamento di tutto il *range* dinamico delle informazioni contenute nel radiogramma, ciò che non poteva essere valutato sul radiogramma analogico. Sono poi possibili le consuete elaborazioni: 1) filtraggio; 2) sottrazione; 3) esaltazione dei margini (effetto bordo simil-xerografico); 4) analisi metriche e densitometriche; 5) elaborazioni statistiche.

Variando elettronicamente la scala dei grigi o con opportuna filtrazione il radiogramma digitalizzato, si rende possibile lo studio di distretti tra loro adiacenti con assorbimento estremamente diverso (osso/parti molli/aria), purché le informazioni, anche se non recepibili dall'occhio umano, siano presenti sul radiogramma (ciò che si verifica di solito nei radiogrammi sovraesposti).

b) La digitalizzazione permette poi di gestire l'informazione nell'ottica dei PACS = memorizzazione, archiviazione su disco ottico, nastro etc.; consultazione su monitor ad alta risoluzione; trasmissione a distanza; riproduzione illimitata dell'informazione.

**Svantaggi della radiologia digitale**

Gli inconvenienti sono quelli propri delle immagini digitalizzate:

a) risoluzione spaziale ossia numero delle informazioni espresse in paia di linee per mm, inferiore rispetto al radiogramma analogico;

b) eccessiva memoria nel caso si volessero conservare tutte le informazioni;

c) aumento del rumore di fondo di tipo intrinseco e dovuto alla fase della informazione luminosa.

**Campi di applicazione della radiologia digitale nello studio dello scheletro**

Il sistema fornisce due immagini di base, una di tipo tradizionale (con curva sigmoidea) e una di tipo lineare (simil-xerografica) (fig. 1); ciò significa che si ottengono sempre informazioni utilizzabili con *range* di esposizione estremamente variabili (da 1 a 50); non sarà più necessario, quindi, ripetere radiogrammi per insufficiente o eccessiva esposizione ai raggi X, con notevoli vantaggi nella cosiddetta radiologia delle urgenze.

L'ampia latitudine di registrazione e l'alto contrasto consentono di ottenere una buona contemporanea visualizzazione di strutture a diversa densità, come l'o. e le parti molli adiacenti (fig. 2).

Le dosi di esposizione sono sensibilmente ridotte, rispetto alla radiologia tradizionale, di almeno il 50-70%; ciò rende la tecnica indispensabile nello studio di soggetti in età pediatrica e quando siano necessari controlli ripetuti nel tempo. Altri vantaggi della radiologia digitale sono i seguenti.

1. Possibilità di elaborare le curve densitometriche, esasperando la risoluzione del contrasto o l'effetto bordo (fig. 3), ciò che compensa la minore risoluzione spaziale.

2. Possibilità di invertire la scala dei grigi (fig. 4).

3. Studio con ingrandimento di regioni di interesse per esasperare il dettaglio e riconoscere minime alterazioni (fig. 5).

4. Possibilità di ottenere misure quantitative, tracciando curve ed istogrammi su aree di interesse.

5. Possibilità di inserirsi in un sistema PACS, per l'archi-

Fig. 1. Radiografia digitale. Il dispositivo in linea fornisce due radiogrammi: uno (*A*) con curva densitometrica sigmoidea e uno (*B*) con curva densitometrica lineare, con effetto simil-xerografico e con possibilità di analisi sia dell'o. che delle parti molli. Si noti, infatti, in (*B*), la dimostrazione di un versamento che distende il recesso soprarotuleo del cavo articolare del ginocchio.

Fig. 2. Radiografia digitale. Sclerodermia con acro-osteolisi. L'ampia latitudine di registrazione, propria della tecnica in questione, permette la contemporanea dimostrazione sia delle parti molli sia dell'o.




Digitized by Google

Fig. 3. Radiografia digitale. Esaltazione dell'effetto bordo. Si riconoscono: sc = tessuto sottocutaneo; m = tessuto muscolare; t = tendine rotuleo; o = o. femorale. Bambina di 16 mesi; esposizione: 60 kV.

viazione, la gestione, la rielaborazione e la trasmissione, anche a distanza, delle immagini.

6. Possibilità di utilizzare le normali apparecchiature radiografiche per l'esposizione degli *imaging plates* e quindi di mantenere immodificata l'organizzazione del lavoro.

Attualmente la complessità dell'apparecchiatura di lettura dell'*imaging plate* e il costo elevato limitano la diffusione dei sistemi in linea, ma certamente nel prossimo futuro tali dispositivi troveranno sempre più ampia diffusione.

**Bibliografia**

Bonetti M. G., Giannatempo G. M., Cammisa M., *Clinical application: musculoskeletal computed radiography*, in *Course on Digital Radiology and PACS Technology*, 1990, L'Aquila.
Cammisa M., Florio F., Zarrelli N. *et al.*, *Radiologia digitale*, 1989, Ed. Scientifiche «Casa Sollievo della Sofferenza», San Giovanni Rotondo (Fg).
Cavallo V., Giovagnorio F., *Principi di radiologia digitale*, 1986, Ed. Bracco, Bracco Linea Radiologica, Milano.
Fraser R. G., Sanders C., Barnes G. T. *et al.*, *Radiology*, 1989, **171**, 297.
Ishida M., Doi K., Loo L. N. *et al.*, *Radiology*, 1984, **150**, 560.
Murphey M. D., *AJR*, 1989, **152**, 541.
Petterson H., Aspelin P., Boijsen E. *et al.*, *Acta Radiol. Diagn.*, 1988, **26**, 267.

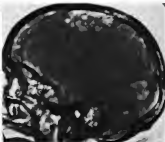
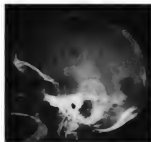



Fig. 4. Cranio con metastasi osteolitiche. *A sinistra*: radiogramma digitale di base; *al centro*: elaborazione con potenziamento dell'effetto bordo; *a destra*: inversione della scala dei grigi.

Fig. 5. Tendinosi calcarea. Il notevole ispessimento del tendine di Achille, con marginali sfumate e presenza di microcalcificazioni, è ben dimostrabile (*a sinistra: frecce*) e ancor meglio dopo elaborazione elettronica (*a destra: frecce*).



Digitized by Google

Sartoris D. J., Sommer F. G., *Skel. Radiol.*, 1984, **11**, 274-281.
Smathers R. L., Brody W. R., *Br. J. Radiol.*, 1985, **58**, 285-307.
Stacul F., Smathers R. L., *Rad. Med.*, 1985, **71**, 732-739.
Tateno Y., Iinuma T., Takano M. eds., *Computed Radiography*, 1987, Springer Verlag, Tokyo.

MARIO CAMMISA

## TOMOGRAFIA COMPUTERIZZATA (TC)

**Premessa**

La tomografia computerizzata (TC) è la prima tecnica radiologica che abbia utilizzato l'elaboratore elettronico per creare immagini ottenute mediante i raggi X.

Le apparecchiature TC hanno consentito, per la prima volta nella storia della radiologia, di ottenere sezioni secondo piani trasversali del corpo umano, che così viene rappresentato con una successione di strati uno all'altro adiacenti.

Ogni strato (tomogramma TC) viene ricostruito con metodi numerici mediante un elaboratore elettronico, il quale al termine della elaborazione raffigura i tessuti anatomici, presenti nello strato studiato, sotto forma di tonalità di grigio diverse, in modo che ne sia consentito il loro riconoscimento mediante il raffronto con una scala di riferimento (cosiddetta scala dei valori di Hounsfield; v. sotto).

Le apparecchiature TC sono in continua evoluzione tecnica e si parla di «generazioni» a seconda delle caratteristiche costruttive di acquisizione delle immagini. Oggi si è giunti alla IV generazione di tali apparecchiature con un sensibile miglioramento, rispetto alle prime, sia per quanto riguarda la qualità delle immagini ottenute sia le modalità di elaborazione delle immagini stesse (ricostruzioni secondo i diversi piani spaziali; tempi di acquisizione e ricostruzione delle immagini, etc.).

Per i principi teorici e di funzionamento della TC si rinvia alla voce TOMOGRAFIA ASSIALE COMPUTERIZZATA (XIV, 2469).

**Qualità dell'immagine TC**

Si tratta di un'immagine creata elettronicamente e che risulta dall'elaborazione, da parte del calcolatore, dei numerosissimi segnali dovuti alle variazioni di attenuazione del fascio radiante; a seconda della composizione dei tessuti studiati l'immagine che si crea è un riflesso della composizione atomica e della densità elettronica degli atomi che costituiscono quei tessuti.

Per il riconoscimento dei tessuti si fa riferimento ad una scala di densità (o di Hounsfield): questa è costituita da una successione di valori compresi tra −3000 (corrispondente all'aria) e +3000 (corrispondente all'o. compatto). Al centro della scala, valore 0, è la densità dell'acqua; il tessuto adiposo ha una densità inferiore all'acqua (−100); le parti molli hanno una densità superiore (tra 30 e 150).

Questi valori consentono una pur grossolana caratterizzazione tessutale e quindi il riconoscimento di certe patologie, ad es. una cisti presenterà valori Hounsfield prossimi a quelli dell'acqua, una neoplasia presenterà valori che rientrano nel *range* delle parti molli.

Questi valori di densità vengono riprodotti sul monitor sotto forma di gradazione di grigio; i loro valori in U.H. (Unità Hounsfield), potranno essere direttamente letti a parte con opportune e semplici manovre sulla *consolle* di comando.

**Utilizzazione della TC nello studio della patologia osteoarticolare**

*Neoplasie*

La TC permette di riconoscere il tipo di matrice (se osteogena o condrogena), i margini, le reazioni del periostio, l'eventuale diffusione extracompartimentale, tutti elementi utili a definire l'aggressività e la stadiazione della neoplasia stessa (fig. 6). Molto utile la TC in particolare nello studio delle neoplasie dello scheletro assile e delle o. piatte, ove la

Fig. 6. TC di una neoplasia della tibia (tumore gigantocellulare). La TC è utile nello studio delle lesioni elementari che caratterizzano le neoplasie dell'o. ed è quindi importante nella loro stadiazione.

radiologia tradizionale non è spesso dirimente per motivi tecnici.

*Metastasi*

La TC oltre a meglio definire le caratteristiche di metastasi note (definendone il tipo: osteolitico, osteosclerotico o misto), ne indica l'eventuale diffusione nei tessuti molli circostanti; non raramente, la TC consente di individuare lesioni metastatiche misconosciute nello scheletro assile (vertebre) o nelle o. piatte (fig. 7) ove la sovrapposizione di altre strutture rende spesso poco affidabile lo studio radiografico tradizionale.

*Flogosi*

La TC ha precise indicazioni nello studio delle flogosi specifiche o aspecifiche vertebrali (spondilodisciti), documentando il grado di distruzione vertebrale e la disposizione degli eventuali ascessi ossifluenti ad esse associati.

*Artropatie*

La TC consente un accurato studio dell'anatomia normale e patologica dei capi articolari.

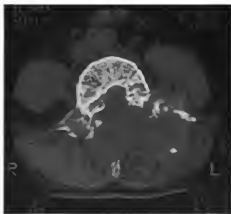



Fig. 7. TC in metastasi vertebrale da cancro della tiroide. La TC consente un preciso bilancio spaziale della lesione dimostrando, tra l'altro, l'invasione dello speco vertebrale e l'infiltrazione del midollo spinale.



Digitized by Google

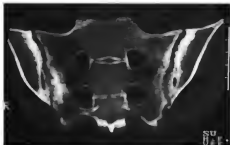
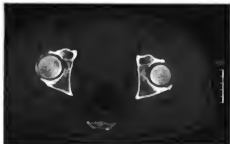



Fig. 8. TC delle articolazioni sacroiliache in spondiloartrite sieronegativa. La TC appare oggi una tecnica necessaria a documentare l'interessamento delle articolazioni sacroiliache, con la dimostrazione delle lesioni elementari che ne indicano la patologia; il *variegated pattern*, che si osserva in questo caso (*frecce*), è indicativo e conferma la presenza di una malattia reumatica sieronegativa sospettata clinicamente. Si notino le erosioni, la sclerosi, le anchilosi focali, la irregolarità dell'interlinea articolare.

1. *Artrite reumatoide.* – Nell'artrite reumatoide viene riconosciuta la compromissione della sinoviale, la presenza di ispessimenti o versamenti endoarticolari; in alcune sedi anatomiche, come a livello dell'articolazione tra dente dell'epistrofeo e arco dell'atlante, la TC (assieme alla RMN) è l'unica tecnica che consente di confermarne l'interessamento.

Le erosioni subcondrali da aggressione del panno vengono ben documentate, specie nelle sedi ove non è agevole la loro dimostrazione con altre tecniche; ciò è particolarmente vero nel caso delle articolazioni coxofemorali e scapolo-omerali.

2. *Spondiloartriti sieronegative.* – La TC è l'unica metodica che permette di riconoscere con certezza, nelle spondiloartriti sieronegative, l'interessamento delle articolazioni sacroiliache; anzi, a questo livello, la TC ha certamente un'indicazione elettiva, con la dimostrazione di un interessamento col cosiddetto «modello variegato», consistente nella contemporanea presenza di erosioni più o meno focali, sclerosi subcondrale, dismetrie articolari ed anchilosi ossee o fibrose focali (fig. 8).

3. *Artropatie microcristalline.* – La deposizione di sali calcarei a livello articolare non è rara sia nel quadro delle cosiddette malattie da deposizione di pirofosfato di calcio (in cui la deposizione calcarea avviene in una o più delle

singole componenti articolari, ossia sinoviale, cartilagine, fibrocartilagini, sinoviale e capsula) sia nelle cosiddette malattie da deposizione da idrossiapatite in cui la deposizione calcarea avviene di solito a livello di inserzioni tendinee (periartrite). La TC articolare consente di dimostrare la caratteristica disposizione di questi depositi e di valutare, nel contempo, le alterazioni degenerative o flogistiche associate (geodi, reazioni osteoproduttive, versamenti) (fig. 9).

4. *Artropatie monoarticolari rare.* – Vi sono alcune artropatie che si avvalgono dello studio TC, sia a scopo diagnostico, sia per una più corretta dimostrazione di estensione della malattia stessa. Tra queste ricordiamo la *condromatosi articolare* con la caratteristica dimostrazione di raccolte a grappoli di calcificazioni rotondeggianti uniformi nel cavo articolare o nei suoi recessi (fig. 10) e la *sinovite villonodulare pigmentosa*, in cui la proliferazione similneoplastica della sinoviale provoca erosioni in sede intracapsulare dei capi articolari.

*Traumi*

La dimostrazione TC di lesioni traumatiche ha il duplice scopo di:

Fig. 9. TC in malattia da deposizione di pirofosfato di calcio. In questa patologia (sinonimi: pseudogotta, condrocalcinosi) la TC consente di dimostrare l'esatta sede delle calcificazioni, in questo caso a livello della cartilagine articolare (*freccia*).

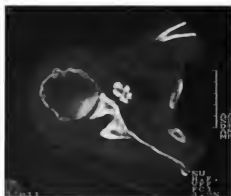
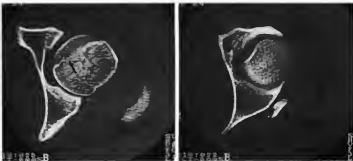



Fig. 10. TC dell'articolazione scapolo-omerale in condromatosi articolare. Si noti la tipica raccolta a grappolo di calcificazioni nel recesso sottocoracoideo del cavo articolare. La TC è oggi ampiamente utilizzata nello studio delle reumo-artropatie.





Digitized by Google

Fig. 11. TC in frattura dell'anca. La TC consente un perfetto bilancio spaziale delle fratture fornendo preziose indicazioni per il trattamento. *A sinistra*: si noti la frattura avvallata della testa femorale e *a destra*, nello stesso caso, il distacco di un segmento dell'orletto acetabolare posteriore. La TC è particolarmente utile anche nello studio delle fratture vertebrali complicate proprio per questa sua visione tomografica assiale.

a) riconoscere più correttamente disposizione e caratteristiche delle rime di frattura (fig. 11);

b) dimostrare le eventuali complicazioni a carico di strutture circostanti, come ad es. la presenza di ematomi nelle parti molli o la compromissione dello speco vertebrale nei traumi dei corpi vertebrali.

**Bibliografia**


Berland L. L., *Practical CT Technology and Techniques*, 1987, Raven Press, New York.
Dal Pozzo G., *Compendio di tomografia computerizzata*, 1991, UTET-USES, Torino.
Lee J. K., Sagel S. S., Stanley R. J., *Computed Body Tomography with MRI Correlation*, 1989, Raven Press, New York.
Morvan G., Messere C., Frija G., *Le scanner ostéo-articulaire. Techniques d'utilisation, indication, résultats*, 1986, Vigot, Paris.
Pistolesi G. F., Procacci C., *Vademecum alla tomografia assiale computerizzata del torace*, 1990, Piccin, Padova.
Vasile N., *Tomodensitometrie corps entier*, 1990, Vigot, Paris.


MARIO CAMMISA

## RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE

Per i principi teorici e di funzionamento della tomografia a RMN si rinvia alla voce TOMOGRAFIA A RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE (XIV, 2417).

**Qualità dell'immagine RMN**

A definire la qualità dell'immagine concorrono numerosi parametri di ordine tecnico come il tipo di matrice, il campo di vista (FOV: *field of view*) ossia le dimensioni dell'area studiata, le modalità di acquisizione delle immagini.

La risoluzione di contrasto dipende dal tipo di sequenze utilizzate e dall'intensità del campo magnetico. La sequenza normalmente impiegata è la *spin-echo* (SE) che, al variare del tempo di ripetizione (TR) e del tempo di eco (TE), viene definita pesata in $T_1$ o in $T_2$. Sono utilizzabili altri tipi di sequenze come la IR (*inversion-recovery*) e le sequenze veloci (*gradient-echo*), impiegate per risolvere problemi diagnostici particolari o in rapporto a determinati quesiti.

La risoluzione spaziale dipende, oltre che dal rapporto segnale-rumore, che è più favorevole alle basse intensità di campo magnetico, anche dalla omogeneità del campo e dalle caratteristiche dei gradienti.

**Utilizzazione della RMN nello studio della patologia osteoarticolare**

La RMN ha trovato un vasto campo di applicazione clinica nello studio della patologia osteoarticolare. Notevoli van-

Fig. 12. RMN: tumore gigantocellulare (TGC) della tibia. *A sinistra*: la neoplasia è perfettamente localizzabile (*frecce*) come un'area con segnale ipointenso in questa sequenza SE, pesata in $T_1$. *A destra*: nella sezione trasversa della tibia, pesata in $T_2$, il tumore presenta adesso un segnale iperintenso (*freccia*).

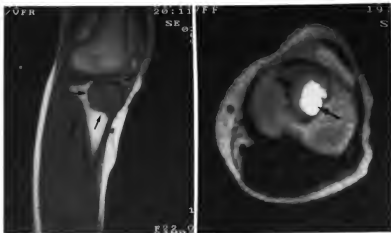



Fig. 13. RMN: metastasi vertebrali di cancro prostatico. In queste sequenze SE pesate in $T_1$, le sedi di metastasi a livello LII-LIII e LIV appaiono come aree ipointense (*frecce*). La RMN è un metodo altamente affidabile per riconoscere metastasi vertebrali.

taggi, rispetto alle altre tecniche di studio, derivano dalla superiore risoluzione di contrasto e dalla multiplanarietà della metodica, che consente di ottenere una visione tridimensionale della regione studiata.

I campi di applicazione della RMN nello studio dell'apparato osteoarticolare sono i seguenti.

*Tumori primitivi*

La RMN si è dimostrata fondamentale nel riconoscimento e nella stadiazione delle neoplasie dell'o. In linea generale tali formazioni presentano un basso segnale nelle sequenze pesate in $T_1$ ed un alto segnale in quelle pesate in $T_2$ (fig. 12); la variabile struttura istologica del tumore può però condizionare l'intensità di segnale nel singolo caso.

Talora comportamenti diversi del segnale sono da correlare alla variabile e non sempre omogenea struttura del tumore per presenza, ad es., di emorragie, componente fibrosa, componente adiposa, etc.

La RMN è fondamentale nello studio della diffusione extra-compartimentale del tumore osseo, dell'interessamento articolare, della dimostrazione delle *skip metastases* (metastasi intracanalicolari).

*Metastasi*

La RMN si sta dimostrando il metodo più sensibile per il riconoscimento delle metastasi scheletriche.

Anche queste lesioni, se di tipo osteolitico, si presentano di solito come immagini a basso segnale nelle sequenze pesate in $T_1$ e ad alto segnale in quelle pesate in $T_2$.

Le metastasi osteosclerotiche determinano invece un basso segnale in entrambe le sequenze pesate in $T_1$ e $T_2$(fig. 13).

*Flogosi (osteomieliti, spondilodisciti)*

La diagnosi RMN appare, in queste circostanze, estremamente precoce e anticipa spesso la positività di altre tecniche di diagnostica per immagini. Ciò è particolarmente vero nello studio delle spondilodisciti, in cui si ha in $T_1$ una riduzione dell'intensità del segnale, ed un suo aumento nelle immagini pesate in $T_2$. Tipicamente è anche possibile accertare l'interessamento del disco intervertebrale, elemento questo prezioso per la diagnosi differenziale con

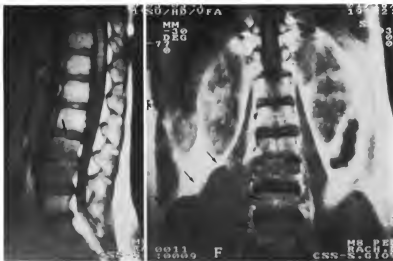
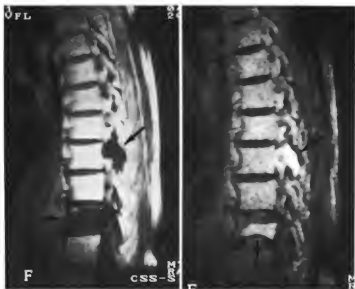



Fig. 14. RMN: spondilodiscite di LIII-LIV. *A sinistra*: ridotto segnale, coinvolgente il disco intervertebrale (*freccia*), nelle sequenze SE pesate in $T_1$. Si noti *a destra* l'ascesso ossifluente (*frecce*).

Fig. 15. RMN: mieloma multiplo. *A sinistra*: nelle sequenze SE le aree ipointense in $T_1$ indicano le sedi di sostituzione del midollo osseo normale con tessuto mielomatoso (*frecce*). *A destra*: le aree prima ipointense appaiono adesso iperintense nelle sequenze pesate in $T_2$ (*frecce*).

eventuali forme neoplastiche, nonché documentare la presenza di eventuali ascessi ossifluenti (fig. 14).

*Emomielopatie (malattie del midollo osseo)*

La RMN è oggi l'unica tecnica che consenta un adeguato studio del midollo osseo in presenza di iperplasia, di infiltrazione (in corso di linfoma, leucemie, mieloma multiplo, etc.), di edema e di lesioni ischemiche del midollo stesso.

Fig. 16. RMN: artrite reumatoide del ginocchio. In queste immagini SE pesate in $T_2$, si nota il versamento articolare (*freccia superiore sottile*) e la erosione attiva subcondrale (*frecce inferiori*).

L'estrema variabilità temporale dei quadri istologici condiziona anche una variabilità del segnale RMN. Di consueto si ha una riduzione del segnale in $T_1$ ed un suo aumento in $T_2$ (specie se vi è un aumento del contenuto in acqua nelle lesioni), ma questa non è la regola.

Le alterazioni di segnale saranno inoltre più o meno omogenee e più o meno estese, e ogni singolo caso deve essere volta per volta correlato al tipo di alterazione anatomopatologica presente al momento dell'esame (fig. 15).

*Malattie reumatiche*

La RMN consente un accurato studio delle singole componenti articolari (cartilagine, capsula, menischi, legamenti, sinoviale) in condizioni normali e patologiche, per cui il suo apporto si sta rivelando fondamentale anche in campo reumatologico.

In particolare è possibile accertare la presenza di pur minimi versamenti articolari (fig. 16), di lesioni meniscali, ligamentarie e capsulari, di alterazioni cartilaginee e di alterazioni dell'o. subcondrale. In particolare le malattie della sinoviale (ad es. presenza di panno articolare o di sinoviti produttive) risultano ben documentabili.

V. anche: TOMOGRAFIA A RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE (XIV, 2466-2468).

**Bibliografia**

Dalinka M. K., Zlatkin M. B., Chao P. *et al.*, *The Use of Magnetic Resonance Imaging in the Evaluation of Bone and Soft-Tissue-Tumors*, in *Radiol. Clin. North Am.*, 1990, **28**, 461.
De Dominicis R., Bartolozzi C., Dal Pozzo G., *La diagnostica per immagini con risonanza magnetica*, 1987, USES, Firenze.
Mink J. H., Deutsh A. L., *MRI of the Musculo-Skeletal System. A Teaching File*, 1990, Raven Press, New York.
Passariello R., *Diagnostica con risonanza magnetica, SIRMN: Aggiornamento professionale continuativo*, 1990, Roma.





Digitized by Google

Ruffato C., Bonera G., Buttazzoni L. *et al.*, *RMN in medicina*, 1986, Piccin, Padova.
Stoller D. W., *Magnetic Resonance Imaging in Orthopaedics and Rheumatology*, 1989, Lippincott, Philadelphia.

MARIO CAMMISA

## DENSITOMETRIA O MINERALOMETRIA OSSEA

### Introduzione

Lo scheletro umano, a partire dalla maturità, si demineralizza progressivamente; quando questa perdita di massa ossea si accelera (come nel periodo postmenopausale) o raggiunge limiti definiti «a rischio» (come nella terza età), possono insorgere complicazioni (fratture, microfratture spontanee o da trauma minimo): in queste circostanze si parla di *malattia osteoporotica* (v. OSTEOPOROSI; OSTEOPOROSI*).

Oggi, a seguito dei progressi consentiti dall'introduzione degli elaboratori elettronici nella diagnostica medica, si sono rese disponibili tecniche relativamente semplici e altamente affidabili per quantificare la massa ossea scheletrica, riassunte nella tab. I.

**TAB. I. COMPARAZIONE DELLE VARIE TECNICHE MINERALOMETRICHE-DENSITOMETRICHE**

| Tecnica | Distretto osseo | Tipo di osso misurato | Precisione (%) | Accuratezza (%) | Durata dell'esame (min) | Radiazione | | Composizione corporea |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Sorgente | Dose assorbita (mrem/esame) | |
| SPA | epifisi radiale, metafisi radiale, calcagno | integrale | 1-3 | 5-8 | 15 | iodio-125 (35 keV) | 5-10 | |
| DPA | colonna vertebrale (LII-LIV), | integrale | 2 | 4-8 | 20-40 | gadolinio-153 (40, 100 keV) | 5-10 | massa magra, grasso, massa ossea |
| | anca (collo del femore, trocantere), | | 2-4 | 4-8 | 20-40 | | 5-10 | |
| | corpo intero | | 1-2 | 8-10 | 60 | | 5-10 | |
| DEXA | colonna vertebrale, | integrale | 0,8-1,5 | 4-6 | 6 | X-ray (70, 140 keV)* | 2-4 | massa magra, grasso, massa ossea |
| | anca (collo del femore, trocantere), | | 2-3 | | 6 | | 2-4 | |
| | corpo intero | integrale | 1,0 | 8-10 | 20 | | 2-4 | |
| QCT | colonna vertebrale | trabeculare, corticale | 2-6 | 5-15 | 10 | X-ray (85 keV) | 200-1000 | |

SPA: *single-photon absorptiometry*; DPA: *dual energy photon absorptiometry*; DEXA: *dual energy X-ray absorptiometry*; QCT: *quantitative computed tomography (single energy)*. * Valori variabili secondo il tipo di apparecchiatura.

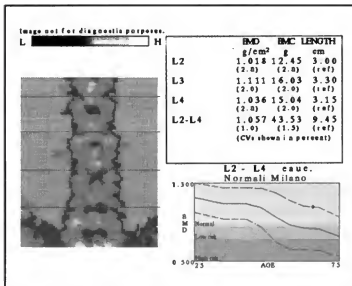
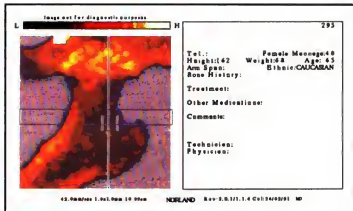



Fig. 17. DEXA (mineralometria a doppio raggio fotonico). Il contenuto minerale integrale dell'o. a livello vertebrale viene automaticamente calcolato da un computer annesso al dispositivo. Viene indicato anche se il soggetto è a rischio di fratture.





Digitized by Google

Fig. 18. DEXA. La quantificazione del BMC può essere fatta a livello dell'anca, fornendo utili indicazioni per prevedere un eventuale rischio di fratture spontanee o da trauma banale dell'anca.

Premesso che nella pratica clinica i termini *densitometria* o *mineralometria ossea* si equivalgono, in questa sede tratteremo in modo particolare la DEXA (*dual energy X-ray absorptiometry*) e la QCT (*quantitative computed tomography*), rinviando per tutto quanto concerne l'argomento nel suo complesso alla voce MINERALOMETRIA OSSEA* (coll. 5154-5158).

## DEXA (*dual energy X-ray absorptiometry*)

Si tratta della più recente tecnica absorptiometrica, in cui il fascio fotonico a doppia energia non viene più prodotto da una sorgente radioisotopica (con lo svantaggio di doverne calcolare periodicamente il decadimento) ma da un tubo radiante.

Presenta i seguenti vantaggi:

a) la doppia energia viene prodotta da un tubo radiante con particolari accorgimenti tecnici, con un rendimento costante e con picchi di energia che variano secondo il tipo di apparecchiatura da 70 e 140 keV (nel tipo Hologic), da 40 e 110 keV (nel tipo Lunar), da 45 e 80 keV (nel tipo Norland). La sostituzione della sorgente avviene ogni 7 anni circa;

b) la dose di irradiazione al paziente risulta sensibilmente ridotta (circa 2-4 mrem);

c) la velocità di scansione è molto rapida;

d) la precisione (ripetibilità) della tecnica è estremamente elevata (1-2%); buona l'accuratezza (3-5%).

L'apparecchiatura consente lo studio del BMC e/o BMD a livello della colonna vertebrale (fig. 17) (che può essere studiata anche in proiezione laterale mediante un braccio mobile) e dell'anca (fig. 18). Permette anche una mineralometria *total-body*.

## QCT (*quantitative computed tomography*)

La QCT (*tomografia computerizzata quantitativa*) è la sola tecnica oggi disponibile che permetta di quantificare la massa ossea nel compartimento spongioso, consentendo con ciò una più corretta individuazione delle malattie metaboliche dell'o., in generale, e dell'osteoporosi post-menopausale, in particolare.

La QCT può essere utilizzata, per la sua flessibilità, per lo studio del BMC (*Bone Mineral Content*) anche a livello di altri segmenti scheletrici, come l'anca, il calcagno; consente di attuare anche misure integrali a livello dell'o. vertebrale.

Per la QCT si utilizzano normali dispositivi TC commerciali, forniti di opportuni fantocci di calibrazione e di programmi per il calcolo del BMC (*Bone Mineral Content*).

I fantocci di calibrazione sono dei dispositivi a semiluna contenenti nel loro interno materiali equivalenti all'idrossiapatite in concentrazioni note (di solito soluzioni di fosfato bipotassico in concentrazioni crescenti). Sono indispensabili per la riproducibilità della misura.

Il procedimento è il seguente: si selezionano con una cosiddetta *scout-view* le vertebre da studiare (da Dxu a Liv) (fig. 19) al centro di queste si individuano le ROI (aree di interesse). Si misurano i corrispondenti valori Hounsfield (U. H.), sia in corrispondenza delle ROI sulle vertebre sia in corrispondenza dei fantocci di calibrazione (fig. 20). Dal raffronto delle U. H. ottenute a livello della spongiosa vertebrale e a livello delle soluzioni equiva-

Fig. 19. Densitometria TC (QCT). La fase preliminare dell'esame prevede l'accurata scelta, mediante una *scout-view*, delle sedi di interesse ove verranno attuate le misure, anche per consentirne la ripetibilità.





Digitized by Google

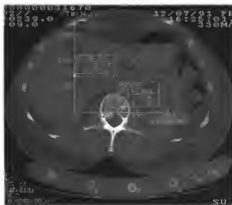



Fig. 20. Densitometria TC (QCT). La BMD (*Bone Mineral Density*) viene calcolata in g equivalenti di carbonato di calcio, facendo riferimento ad un test di calibrazione incorporato (cfr. base figura).

lenti dei fantocci di calibrazione, tenendo conto di altri parametri e di fattori di correzione, viene ricavato il contenuto minerale nel volume di spongiosa vertebrale studiata; i calcoli vengono fatti quasi in tempo reale, da un opportuno programma informatico annesso al dispositivo TC.

Nelle QCT la BMD viene espressa in mg/cm$^3$. La durata dell'esame è di circa 15 min. La precisione è del 2-5%; l'accuratezza è invece bassa: 5-20%; il più importante errore è legato alla quota di tessuto adiposo presente nel midollo osseo che è una causa di sottostima della densità ossea. Per questo motivo alcuni sistemi di calcolo (come il Cirscalc) prevedono l'introduzione di fattori di correzione per il grasso.

**Applicazioni cliniche delle tecniche densitometriche-mineralometriche**

Le tecniche densitometriche-mineralometriche vengono oggi utilizzate per i seguenti motivi:

a) definire se un paziente è affetto da osteoporosi (v.*). Ciò è possibile entro ragionevoli limiti di confidenza, facendo riferimento alle normali curve di decadimento del BMC nella popolazione maschile e femminile;

b) definire se il soggetto studiato è a rischio per fratture spontanee o da traumi minori. Si sa infatti che sotto un certo valore soglia, calcolabile con la QCT a 110 mg/cm$^3$, è molto probabile l'insorgenza di fratture spontanee. Con la mineralometria ossea computerizzata il riconoscimento di tale valore soglia risulta meno evidenziabile;

c) definire se il trattamento cui viene sottoposto un paziente osteoporotico sia efficace. Occorre in questo caso utilizzare tecniche con la più elevata precisione possibile: a questo proposito la mineralometria ossea computerizzata ed in particolare la DEXA appaiono le tecniche più indicate. È stato calcolato che occorre un guadagno annuo del 2-10% perché questo venga riconosciuto con la mineralometria ossea computerizzata e del 4-20% l'anno perché sia dimostrato con la QCT.

**Bibliografia**

Cann C. E., *Radiology*, 1988, **166**, 509-522.
Desforges J. F., *N. Engl. J. Med.*, 1991, **324**, 1105-1109.
Laval-Jeantet A. M., *Radiologie J. Cepur*, 1990, **10**, 355.
Majer L., Nadjahi J., Brunot H., Georges D., *Ann. Radiol.*, 1990, **33**, 329-338.
Sartoris D. J., Resnik D., *Radiol. Clin. North Am.*, 1990, **28**, 257-274.
Wahner H. W., *TEM*, 1990, nov.-dec., 382-387.

MARIO CAMMISA

## OSTEOCALCINA

F. *osteocalcine*. - I. *osteocalcin*. - T. *Osteokalcin*. - S. *osteocalcina*.

SOMMARIO



**Generalità e caratteristiche biochimiche**

L'osteocalcina è una proteina non collagenica dell'osso che è stata recentemente oggetto di numerosi studi perché ritenuta un indice fedele dell'«attività» degli osteoblasti. In ragione della sua ricchezza in residui dell'ac. gammacarbossiglutammico (GLA) e della sua abbondanza nell'osso, ove costituisce la proteina non collagenica più rappresentata, è chiamata anche *bone GLA protein* (BGP). Essa è formata da una catena peptidica di 49 aminoacidi con un peso variabile a seconda delle specie, ma che nell'uomo risulta essere di 4,9 kilodalton. Nella specie umana tale proteina è caratterizzata dal fatto di possedere tre residui gammacarbossiglutammici che sono Vit. K-dipendenti; il ponte disolfuro, presente tra i residui di cisteina in posizione 23 e 29, sembra conferire alla molecola una conformazione idonea a farla interreagire con l'idrossiapatite. Nell'uomo, l'osso contiene una minima quantità di BGP rispetto agli altri animali (0,05-0,1 mg/g di osso).

Studi su una linea cellulare da osteosarcoma umano dimostrerebbero che la BGP è sintetizzata come una proproteina con un p. m. di 13,5 kilodalton. Molte ricerche su colture cellulari e con traccianti radioattivi hanno dimostrato che l'o. è sintetizzata nell'osso dagli osteoblasti e successivamente incorporata nella matrice proteica, ove rimane fino al momento in cui l'osso viene riassorbito. Una parte della BGP, circa il 30%, passa in circolo; significativa, per i riflessi diagnostici, la dimostrazione che i livelli sierici di o. riflettono quasi esclusivamente l'attività osteoblastica e non sono influenzati dai processi di riassorbimento osseo.

**Funzione dell'osteocalcina**

La precisa funzione dell'o. non è ancora ben definita; tuttavia l'opinione prevalente è che essa ritardi la mineralizzazione dell'osso perché, legandosi con i suoi tre residui GLA all'idrossiapatite, ne impedisce la crescita per precipitazione del fosfato di calcio. In questo senso depone la dimostrazione che il trattamento anticoagulante, che deprime la produzione di o. attiva, produce nel ratto una anormale saldatura delle epifisi, cioè fa venir meno l'azione di inibizione della mineralizzazione. Comunque sia, la BGP compare al momento della mineralizzazione e, sulla base di dati istomorfometrici, sembra costituire una buona misura indiretta del volume osteoide.

D'altro canto, il rilievo sperimentale di un'attività chemiotattica nei confronti dei monociti circolanti, di una azione favorevole sul reclutamento e la differenziazione degli osteoclasti, nonché la capacità di esporre, ove essa è presente, le zone su cui si attuerà il riassorbimento, fanno



Digitized by Google

ipotizzare un coinvolgimento della BGP anche nel riassorbimento osseo.

**Significato clinico del dosaggio**

Il rilievo sperimentale che anticorpi di ratto contro la BGP bovina cross-reagiscono anche con quella umana ha reso possibile il dosaggio di quest'ultima. Come tutte le metodiche radioimmunologiche, anche quella attualmente impiegata per la determinazione dei livelli sierici di o. tende a dosare non solo la proteina biologicamente attiva, ma anche i frammenti derivati dalla sua metabolizzazione. Il contemporaneo dosaggio della o. e della fosfatasi alcalina ossea ha dato luogo a risultati concordanti solo in alcune delle affezioni ossee esaminate. Queste discrepanze possono essere attribuite al fatto che le due proteine riflettono differenti aspetti dell'attività osteoblastica o anche a differenze nel loro metabolismo. Pertanto, il dosaggio della BGP non può attualmente sostituire completamente quello degli altri indici di *turnover* osseo, ma solo utilmente completarlo.

Malgrado queste limitazioni e le ovvie variabilità di risultati a seconda delle caratteristiche del dosaggio utilizzato, esiste un notevole accordo circa il comportamento della proteina in una serie di condizioni fisiologiche e patologiche. Nell'adulto normale i livelli sierici oscillano ampiamente a seconda del tipo di dosaggio impiegato, risultando in genere compresi tra i 3 ed i 16 ng/ml; esiste un ritmo circadiano con nadir nella tarda mattinata. Inoltre i livelli sierici della proteina sembrerebbero, secondo alcuni AA., aumentare con l'età ed ancor più nelle donne durante i primi anni di menopausa. Poiché questo incremento correla positivamente con altri indici di rimodellamento osseo e negativamente con la densità ossea, è lecito ritenere che esso sia indice di un incremento del *turnover* osseo con l'avanzare dell'età, ma soprattutto subito dopo la cessazione della funzione gonadica. Egualmente più elevate sono le concentrazioni della proteina nelle condizioni di fisiologico accrescimento scheletrico (neonato e giovani fino ai 20 anni). La BGP è invece diminuita nei bambini con deficit di somatotropo, ma si normalizza per effetto del trattamento sostitutivo. Il calcitriolo [1,25 $(OH)_2D_3$] stimola, a dosi fisiologiche, la produzione di o., forse per intervento sul gene che regola la sintesi osteoblastica di BGP.

Nei pazienti *osteoporotici* il dosaggio della o. sierica ha dato luogo a risultati contrastanti, probabilmente a seconda delle condizioni di *turnover* osseo. In presenza di un *turnover* elevato la BGP è risultata aumentata e ben correlata con la fosfatasemia alcalina, ma non con la calciuria e la idrossiprolinuria, cioè con gli indici di riassorbimento osseo. Per contro, la proteina è risultata normale in soggetti con osteoporosi stabilizzata, sicché il dosaggio della BGP può essere utilizzato solo per valutare l'entità del rimodellamento e gli effetti sullo stesso di eventuali terapie.

Nell'*iperparatiroidismo primitivo* i livelli di o. sono aumentati e ben correlati con il paratormone sierico, la calcemia, la massa del tessuto paratiroideo e con gli indici istomorfometrici di mineralizzazione e neoformazione ossea. Tuttavia l'infusione acuta di paratormone sia nell'uomo che nell'animale di laboratorio, provoca una inibizione acuta della sintesi di BGP. Nell'*ipoparatiroidismo* la BGP è risultata inferiore alla norma, in accordo con il ridotto *turnover* osseo tipico dell'affezione. Nell'*insufficienza renale* sia umana che sperimentale, i livelli di o. tendono ad aumentare solo quando i valori del filtrato glomerulare siano scesi notevolmente. Questo comportamento dipende non solo dalla ridotta clearance renale della molecola, ma anche dall'accumularsi di frammenti vari della stessa.

Nella *osteomalacia* la BGP risulta aumentata, ma non correlata con la velocità di calcificazione dell'osteoide sicché essa sembra riflettere più la produzione che la mineralizzazione della matrice proteica dell'osso. Negli *ipercorticismi* sia primitivi che iatrogeni, l'o. risulta costantemente diminuita a causa della riduzione della attività osteoblastica; la correzione dell'ipercorticismo normalizza i livelli sierici di BGP.

Nell'*ipertiroidismo* i valori di o. sono aumentati e proporzionali al grado di attività della malattia. Alquanto limitata è risultata invece l'utilità della BGP come *marker* di metastasi ossee o di coinvolgimento scheletrico in corso di *mieloma multiplo*. Egualmente non del tutto soddisfacenti sono stati i risultati ottenuti nel *morbo di Paget*, nel quale l'aumento della BGP è spesso inferiore a quello della fosfatasemia alcalina o dell'idrossiprolinuria e soprattutto non è risultato essere correlato al grado di attività della malattia. In questa malattia è possibile che vi sia un'anomalia di sintesi della BGP da parte di osteoblasti immaturi.

Infine va sottolineato che molti dei farmaci utilizzati per la terapia delle malattie metaboliche ossee influenzano i livelli sierici di BGP. Tra questi gli estrogeni, il calcitriolo, la calcitonina, i difosfonati, i fluoruri.

**Altre proteine non collageniche**

L'*osteonectina* è una fosfoglicoproteina abbondantemente rappresentata nell'osso del feto e del neonato (15% delle proteine non collageniche) che si riduce con il raggiungimento dell'età adulta. Essa è in grado di legarsi all'idrossiapatite e al collagene e svolge forse un ruolo di controllo della mineralizzazione. L'osteonectina potrebbe essere un buon *marker* di *turnover* osseo se non fosse presente in gran quantità nelle piastrine che contribuiscono perciò a farne aumentare in modo spurio i livelli sierici.

Vi sono poi altre proteine che al momento rappresentano solo dei *marker* potenziali di attività osteoblastica. Innanzitutto le *sialoproteine*, proteine fosforilate che contengono ac. sialico; una di queste è stata di recente denominata *osteopontina* perché incrementa l'adesività di molte cellule. I *proteoglicani* sono costituiti da una parte centrale proteica cui si attaccano glicosoaminoglicani ed oligosaccaridi. Si postula che queste proteine siano capaci di regolare la sintesi delle fibrille collagene.

**Bibliografia**

Delmas P. D., *Biochemical Markers of Bone Turnover in Osteoporosis*, in Riggs B. L., Melton L. J. eds., *Osteoporosis: Diagnosis and Management*, 1988, Raven Press, New York, p. 297.
Delmas P. D., Malaval L., Arlot M. D., *Bone*, 1985, **6**, 329.
Delmas P. D., *Endocrin. Metab. Clinics of North America*, 1990, **19** (1), 1.
Price P. A., *Osteocalcin*, in Peck W. A. ed., *Bone and Mineral Research*, 1983, Excerpta Medica, Amsterdam, p. 157.
Price P. A., *Vitamin K-Dependent Bone Proteins*, in Cohn D. V., Martin T. J., Meunier P. J. eds., *Calcium Regulation and Bone Metabolism. Basic and Clinical Aspects*, 1987, vol. 9, Excerpta Medica, ICS 735, p. 419.

VINCENZO LO CASCIO

## OSTEOPOROSI [v. vol. XI, col. 270]

SOMMARIO



**Generalità ed epidemiologia**

Nell'ultima Consensus Development Conference svoltasi a Copenhagen nell'ottobre 1990, l'osteoporosi è stata definita come una malattia caratterizzata dalla diminuzione



Digitized by Google

della massa ossea e dal deterioramento della microarchitettura dell'osso, con conseguente aumento della sua fragilità e del rischio di frattura. In tal modo è stato posto l'accento sull'importanza delle modificazioni non solo quantitative (riduzione della massa ossea) ma anche qualitative (modificazioni microarchitetturali) del tessuto scheletrico.

Tale malattia deve essere considerata come una delle cause principali di mortalità e spesa sanitaria in tutto il mondo. Negli U.S.A., in Europa e in Giappone l'o. interessa circa 75 milioni di persone cosicché una donna su tre dopo la menopausa e la maggior parte delle persone anziane risultano affette da questa osteopatia. Tenendo conto del progressivo aumento di vita media della popolazione mondiale e dell'aumento dell'incidenza delle fratture conseguenti all'o. in numerose aree geografiche, l'o. rappresenterà nel prossimo futuro un problema ancora più rilevante sia dal punto di vista economico che sociale.

La frattura del femore è la principale causa di mortalità e di morbilità per o. ed è il fattore più importante di menomazione tra le persone anziane. Il 12-20% dei soggetti con frattura di femore muore entro un anno dall'evento fratturativo e la mortalità aumenta progressivamente con l'avanzare dell'età.

Per ciò che concerne l'Italia l'incidenza annuale delle fratture femorali associate ad o. (0,75 per mille abitanti) non si discosta da quelle di altri paesi del Nord-Europa; inoltre fino al 1980 il numero di casi, per quanto desumibile dall'andamento della incidenza della mortalità per frattura di femore, ha registrato un progressivo aumento (Heyse *et al.*, 1990).

#### Diagnosi

La diagnosi di o. dovrebbe esser posta solamente su base istologica, mediante la dimostrazione della riduzione del tessuto osseo per unità di superficie esaminata. Sul piano strettamente clinico la diagnosi può essere posta qualora compaiano le fratture tipiche della malattia. Tuttavia la possibilità di misurare mediante l'impiego di mineralometri (v. MINERALOMETRIA OSSEA*) il contenuto minerale osseo, ha consentito che la o. possa essere diagnosticata come condizione a rischio, prima che abbia luogo l'evento fratturativo. La valutazione del contenuto minerale osseo va pertanto intesa come un mezzo per valutare il rischio di andare incontro alla malattia (cioè di andare incontro a frattura). Numerosi sono infatti gli studi in letteratura indicanti un aumento del rischio relativo di frattura col diminuire del contenuto minerale a qualsiasi livello esso venga misurato (Cummings *et al.*, 1990).

Per ciò che concerne le tecniche fondamentali attualmente in uso per la valutazione del contenuto minerale osseo si rinvia il lettore alle voci MINERALOMETRIA OSSEA* e osso*. Altre tecniche, quali quelle impieganti ultrasuoni o la risonanza magnetica nucleare, non sono applicabili su larga scala o sono ancora in fase sperimentale.

#### Individuazione del soggetto a rischio

Sulla base del rilievo che la comparsa delle fratture atraumatiche è rara per valori di contenuto minerale al di sotto dei valori medi rilevati nella popolazione normale giovane e basandosi sulla osservazione che la distribuzione del contenuto minerale osseo è di tipo gaussiano, è stato proposto che la soglia di rischio fratturativo sia posta 2 deviazioni standard al di sotto della media dei valori densitometrici rilevata nei soggetti normali, tra 35 e 45 anni; nella donna la media è computata sui valori della popolazione fertile (Mazzuoli *et al.*, 1989; Nordin, 1987). Altri AA. ritengono di fissare la soglia in base alla distribuzione della massa ossea rilevata nei pazienti fratturati, fissandola al 90° (Riggs *et al.*, 1982) o al 65° (Mazess, 1987) percentile. Pertanto il rilievo di valori di contenuto minerale al di sotto della soglia di rischio fratturativo (indipendentemente dalle modalità attraverso cui venga definita) individua il paziente a rischio da sottoporre a terapia preventiva.

Poiché nelle donne si osserva una brusca riduzione del contenuto minerale in conseguenza della cessazione della funzione gonadica, l'attenzione dei ricercatori si è concentrata su questo particolare momento della vita femminile, allo scopo di poter già in tale epoca individuare i soggetti a rischio. Christiansen *et al.* (1990) hanno infatti dimostrato che mediante l'uso di alcuni parametri antropometrici e biochimici, o solamente con l'impiego di questi ultimi, è possibile predire la velocità di perdita della massa ossea subito dopo la cessazione spontanea della funzione gonadica. Poiché le pendenze delle curve di perdita della massa ossea dei singoli individui sono distribuite in maniera bimodale intorno ad un valore del 3% per anno, ne deriva che coloro che perdono osso ad una velocità maggiore del 3% per anno avranno maggior probabilità di superare il limite della soglia di frattura e pertanto di andare incontro alle complicanze fratturative derivanti dalla rarefazione del tessuto osseo. Tali individui saranno coloro che maggiormente trarranno benefici da una terapia preventiva con i farmaci attualmente a nostra disposizione. L'approccio formulato da tali AA. ha sicuramente aperto un nuovo orizzonte nella soluzione del problema dell'identificazione del soggetto a rischio; tuttavia ulteriori studi sono necessari per poter sostituire completamente l'indagine densitometrica con quella biochimica.

#### Terapia

Numerosi sono i farmaci attualmente a nostra disposizione nella terapia dell'o. Essi possono essere suddivisi in due gruppi a seconda che inibiscano il riassorbimento osseo (estrogeni, calcitonina [v.*], difosfonati [v.*], sali di calcio) o abbiano un effetto di stimolo sulla osteogenesi (fluoruro, steroidi anabolizzanti, ormone paratiroideo). Altri farmaci agiscono attraverso differenti modalità, quale ad es. l'aumento dell'assorbimento intestinale del calcio (Vit. D); di altri ancora (ad es. l'ipriflavone) non sono ancora noti esattamente i meccanismi d'azione. Due di essi, gli estrogeni e la calcitonina (Mazzuoli *et al.*, 1986) sono stati accettati dalla Food and Drug Administration per la terapia di tale osteopatia; gli altri sono considerati ancora in fase sperimentale, sebbene avanzata per alcuni di essi.

Occorre comunque ricordare che lo scopo principale della terapia dell'o. non dovrebbe essere quello della prevenzione secondaria, ma piuttosto quello della prevenzione primaria. Ciò dovrebbe essere oggi facilmente praticabile disponendo di mineralometri in grado di diagnosticare la riduzione della massa ossea prima che si verifichino gli eventi fratturativi.

#### Bibliografia


Christiansen C. *et al.*, *Osteoporosis Int.*, 1990, **1**, 35.
Consensus Development Conference: Prophylaxis and treatment of osteoporosis, *Am. J. Med.*, 1991, **90**, 107.
Cummings S. R. *et al.*, *JAMA*, 1990, **263**, 665.
Heyse S. P. *et al.*, *Calcif. Tissue Int.*, 1990, **46**, 289.
Mazess R. B., *Calcif. Tissue Int.*, 1987, **41**, 117.
Mazzuoli *et al.*, *Calcif. Tissue Int.*, 1986, **38**, 3.
Mazzuoli *et al.*, *Clin. Rheumathol.*, 1989, **8** (Suppl. 2), 22.
Nordin B. E. C., *Calcif. Tissue Int.*, 1987, **40**, 57.
Riggs B. L. *et al.*, *J. Clin. Invest.*, 182, **70**, 716.


SALVATORE MINISOLA

## OZONO [v. vol. XI, col. 565]

#### Aspetti biomedici

*Introduzione*

L'ozono è una molecola gassosa, costituita da tre atomi di ossigeno [$O_3$], che in natura si forma nell'alta atmosfera per





Digitized by Google

azione della radiazione ultravioletta solare sulle molecole di ossigeno. La sua concentrazione, che è massima a quote comprese tra i 15 ed i 30 km di altitudine, è dell'ordine delle parti per milione (ppm: rapporto di mescolamento indicante il numero di molecole di $O_3$ per ogni milione di altre molecole); esso protegge la superficie del pianeta assorbendo la radiazione ultravioletta solare.

Parlare di $O_3$ oggi significa essenzialmente riferirsi a questo gas presente nell'alta atmosfera (dove, come abbiamo detto, massima è la sua concentrazione), alle sue interazioni, sempre in stratosfera, con altre sostanze gassose di origine sia naturale che antropogenica e quindi ad una sua possibile diminuzione, rispetto alla situazione «naturale», e relative conseguenze per l'uomo e l'ambiente.

All'inizio degli anni '70 fu ipotizzato che diverse sostanze gassose prodotte e utilizzate dall'uomo potessero interagire con l'$O_3$ presente nella stratosfera; oggi l'ipotesi è divenuta realtà. Si dispone ormai di prove importanti sulla responsabilità che certe sostanze, come ad es. i clorofluorocarburi, hanno nell'alterazione dell'equilibrio naturale che regola la formazione dell'$O_3$ stratosferico facendo prevalere le reazioni di distruzione sulle reazioni di formazione dell'$O_3$ stesso. Al riguardo, i governi di molti paesi sviluppati e in via di sviluppo hanno deciso drastiche misure per diminuire l'uso e quindi la dispersione nell'ambiente di diverse sostanze clorurate.

Una riduzione della concentrazione totale di $O_3$ porta come conseguenza che la radiazione U.V. compresa tra 280 e 315 nm (il così detto U.V.-B), che raggiunge la superficie terrestre, non solo aumenta di intensità ma è caratterizzata da lunghezze d'onda più corte rispetto alla situazione «naturale». Ciò comporta essenzialmente danni per la salute dell'uomo e può incidere negativamente sugli ecosistemi sia marino che terrestre. Una variazione della distribuzione verticale dell'$O_3$ contribuisce anche a determinare cambiamenti di clima.

*L'attuale stato di conoscenza del problema dell'ozono stratosferico*

C'è un'indiscussa evidenza sperimentale che a seguito dell'attività umana la concentrazione in atmosfera di clorofluorocarburi, clorofluorocarburi bromurati (gli «halons»), metano, protossido di azoto ed anidride carbonica sta aumentando rapidamente. Questi gas influenzano il naturale processo di formazione e distruzione dell'$O_3$ stratosferico alterando la «concentrazione totale» (detta anche *colonna d'ozono*) e la «distribuzione verticale» di questo gas.

a) *Il «buco» nell'ozono dell'Antartide.* – Questo fenomeno, iniziatosi ad osservare sperimentalmente nell'Antartide tra la fine degli anni '70 e gli inizi degli anni '80, consiste in una anomala diminuzione (che negli ultimi anni ha raggiunto valori del 60-70%) della naturale concentrazione di $O_3$, tra 12 e 20 km di altitudine, limitata nel tempo e nello spazio. Esso si manifesta solo sulla regione polare sud all'inizio della primavera antartica quando la luce del sole ritorna dopo l'inverno polare; nel giro di qualche settimana la concentrazione dell'$O_3$ ritorna poi a livelli medi. Le evidenze sperimentali danno supporto all'ipotesi che il cloro e il bromo derivanti dai composti prodotti dall'uomo, insieme alle peculiari condizioni meteorologiche della regione antartica, sono essenzialmente le cause di tale fenomeno. Infatti le particolari condizioni atmosferiche proprie di tale regione durante la stagione primaverile (temperature basse fino a −80 °C) provocano la formazione di nubi polari stratosferiche costituite da cristalli di ghiaccio su cui si adsorbono gli ossidi di azoto. È sulla superficie di tali cristalli che, mediante un processo catalitico di attivazione, cloro e bromo presenti in stratosfera reagiscono con l'$O_3$ causandone una brusca diminuzione.

I clorofluorocarburi, gli «halons», il tetracloruro di carbonio ed il metilcloroformio sono indicati come i principali responsabili dell'aumento della concentrazione del cloro e bromo nella stratosfera e quindi del formarsi del «buco» nell'$O_3$ dell'Antartide; si è stimato che questo fenomeno si ripeterà fino a che gli attuali valori di abbondanza di cloro in atmosfera (circa 3 ppbv, parti per bilione in volume) non ritorneranno ai valori della fine degli anni '70 (1,5-2 ppbv).

b) *L'ozono nel resto del continente.* – Accurate analisi dei dati sperimentali ottenuti da stazioni di rilevamento a terra o da satelliti mostrano che nel periodo 1969-1988, e in particolare nell'emisfero nord alle latitudini comprese tra i 30° e i 60° N ed essenzialmente durante i mesi invernali, c'è stata una misurabile diminuzione dell'$O_3$ totale dell'ordine di qualche percento. Anche per il profilo di distribuzione verticale si sono ottenute indicazioni di una significativa variazione specie verso i 40 km di altezza.

All'accertata diminuzione di $O_3$ totale non c'è fino a oggi, ad eccezione fatta per l'Antartide, il riscontro sperimentale dell'aumento di radiazione U.V.-B che raggiunge la superficie terrestre: ciò può essere dovuto a diverse cause e tra queste ricordiamo che piccoli incrementi in troposfera di gas inquinanti e di particelle influenzano le misure sperimentali, specie in regioni altamente popolate, nel senso di compensare la diminuzione di $O_3$ totale.

*Conseguenze della diminuzione dell'ozono stratosferico*

È noto che la radiazione solare, in particolare l'U.V.-B, ha molti effetti sull'uomo, sugli animali e le piante. La maggior parte di questi effetti sono dannosi e di entità non facilmente prevedibile a causa delle scarse conoscenze al riguardo. Tuttavia anche con l'attuale livello di conoscenza è evidente che alcuni di questi effetti costituiscono significativi rischi sia per l'uomo che per l'ambiente.

1. *Effetti sull'uomo.* – Gli effetti potenziali di aumentati livelli di radiazione U.V.-B dovuti alla diminuzione dell'$O_3$ includono:

— i tumori della pelle, intendendo con questa dizione sia il non-melanoma che il melanoma;
— danni alla cornea e alla retina dell'occhio;
— danni al sistema immunitario.

La correlazione tra il non-melanoma e l'esposizione alla luce solare e U.V. è indubbia; a supporto di tale assunzione giova ricordare che:

— la categoria a più alto rischio è costituita da individui di pelle chiara che si espongono molto al sole;
— le parti del corpo più colpite sono quelle più esposte;
— gli individui che vivono più vicini all'equatore, e perciò esposti a più U.V.-B, sono ad alto rischio;
— l'esposizione all'U.V. induce, in animali modello, carcinoma nelle cellule squamose.

La correlazione tra esposizione al sole e all'U.V.-B e melanoma maligno è invece ancora oggetto di controversia specie in relazione al fatto che gli individui che passano gran parte della loro vita esposti al sole sembrano essere a minor rischio di quelli che si espongono solo per periodi brevi e occasionali. C'è da osservare che per diversi decenni è stato riscontrato un continuo aumento dell'incidenza del melanoma maligno della pelle negli individui di pelle bianca. Una valutazione statistica dei dati indica che l'incidenza si raddoppia grosso modo ogni 10-15 anni; c'è comunque da tener presente che i dati epidemiologici non sono molto uniformi.

Fotocheratiti, cheratopatie, cataratte e danni alla retina sono stati associati con l'esposizione dell'occhio alla luce



Digitized by Google

solare e all'U.V.-B. Il ruolo che l'U.V.-B svolge nell'etiologia della cataratta non è ancora ben compreso; parte delle incertezze possono derivare dal fatto che la cataratta è una malattia alla quale contribuiscono altri fattori (ad es. deficienza nutrizionale).

Gli effetti della radiazione solare e U.V.-B sul sistema immunologico umano non sono stati studiati in maniera adeguata e tale da permettere una stima della relazione dose-risposta per questi stessi effetti. Qualitativamente è noto da esperienze su animali che le dosi di U.V.-B necessarie per indurre un'immunosoppressione sono molto più basse di quelle richieste per la cancerogenesi. Questo potrebbe significare che l'esposizione a basse dosi di U.V.-B, perfino a dosi che non causano le così dette «bruciature da sole», possono diminuire la capacità del sistema immunitario umano a provvedere ad una effettiva difesa contro cellule neoplastiche della pelle. Inoltre una teoria del meccanismo dell'immunosoppressione suggerisce che il fotorecettore attivo si trova al di sopra della melanina; ciò significherebbe che tutte le razze umane, e non solo quella bianca, sono ugualmente a rischio per la immunosoppressione da radiazione U.V.-B.

2. *Effetti sulle piante.* – Sono state studiate circa 80 varietà di 12 specie di piante. Ad un aumento della radiazione U.V.-B, il cinquanta per cento di queste piante ha evidenziato una diminuzione della crescita e delle dimensioni delle foglie. In alcuni casi queste piante mostrano anche variazioni nella loro composizione chimica che può riflettersi sulla qualità degli alimenti e sulla disponibilità di sostanze nutritive minerali. Varietà di piante della stessa specie hanno differente sensibilità all'U.V.-B. Così mentre alcune varietà di soia sono del tutto insensibili, per altre varietà economicamente importanti si è osservato che una esposizione all'U.V.-B, simulante una riduzione di $O_3$ totale pari al 25%, riduce la quantità di raccolto fino al 20-25%.

C'è anche da tener presente che la risposta delle piante all'U.V.-B viene complicata dalla presenza di pigmenti, da stress ambientali e da processi di fotoriparazione.

3. *Ecosistemi acquatici.* – Predizioni sulle conseguenze di un incremento dell'U.V.-B nelle popolazioni delle acque naturali risultano molto difficili in quanto i modelli attualmente in uso sono poco adeguati. Tra i fattori che rendono complicata la trattazione del problema citiamo:

— la variabilità dei parametri fisici e biologici degli ecosistemi marini;

— la variabilità dei livelli di radiazione che penetrano nell'acqua;

— la possibilità di adattamento degli organismi acquatici mediante selezione di tipi resistenti;

— le grandi differenze degli organismi acquatici per quanto riguarda gli stadi di sviluppo, di pigmentazione, il luogo e profondità in cui vivono, e non ultima la sensibilità all'U.V.-B.

V. anche: INQUINAMENTO DELL'AMBIENTE* (coll. 3845-3847).

**Bibliografia**

Council report «Harmful Effects of Ultraviolet Radiation», *JAMA*, 1989, **262**, 380-384.
Ley R. D., Applegate L. A., Steven Padilla R., Stuart T. D., *Photochemistry and Photobiology*, 1989, **50**, 1-5.
Mackie R. M., Rycraft M. J., *Br. Med. J.*, 1988, **297**, 369.
Urbach F. ed., *Photochemistry and Photobiology*, 1989, **50** (n. 4), 439-524.
Visconti G., *L'atmosfera. Origine, evoluzione ed effetti sul clima*, 1989, Garzanti, Milano.

MAURIZIO CIGNITTI

FINE DEL TERZO TOMO DELL'AGGIORNAMENTO I

3280113



Digitized by Google